

組織培養法による放射線障害の化学的防禦に関する研究

第 2 編

培養 L-細胞に対する S-2-Aminoethylisothiuronium-Br·HBr (AET),
Cystamine 及び α -Homocysteinethiolactone (HCT) の X線防禦効果

岡山大学大学院医学研究科 (主任:橋本 清教授)
(主任:大平昌彦教授)

安 東 規 雄

〔昭和 39 年 12 月 24 日受稿〕

I 緒 言

近時放射線利用の機会の激増に伴い、放射線障害に対する防禦の問題を真剣に検討すべき時期にきている。

放射線の防禦には、従来の物理的防禦 (physical protection) のほか、化学的防禦 (chemical protection) の可能性が考えられている。物理的防禦とは、ある物質による電離放射線の遮へい (shielding) によるものであり、化学的防禦とは、化学物質、すなわち、ある種薬剤を事前投与することにより、個体の放射線感受性を低め障害を防禦することを意味するものである。

この化学的防禦について、この分野を切り開き、動物実験へ応用したのが Patt ら¹⁾ であり、Bacq ら²⁾ であった。その後、今日まで、化学的防禦についての数多くの研究がなされ討論が行なわれてきたことは、第 1 編において述べた通りである。しかし乍ら今日もなお、放射線の生体への作用機構の点については未解決の分野が少なくないが、従つて、放射線障害の化学的防禦の研究は、防禦物質の作用機構の研究であり、結局は、ある種の化学物質の効果から放射線の作用機構を解明する手がかりを得んための研究ともいえる。今日まで明らかにされている化学的防禦剤のうち、SH 剤の作用機構について、次のような説がある。Bacq ら³⁾ 及び Doherty ら⁴⁾⁵⁾ の

- 1 Biological molecules との competition 説
Gray ら⁶⁾⁷⁾⁸⁾ 及び Groot ら⁹⁾ の
- 2 Temporary tissue anoxia 説
Eldjarn ら¹⁰⁾¹¹⁾¹²⁾ 及び Koch ら¹³⁾ による
- 3 生体 SH 蛋白と disulfide を形成することに

よつて保護作用を与えるとする説

等々があり、それぞれ裏づける報告がなされている。

第 1 編¹⁴⁾ において (岡山医学会雑誌 77 巻 1 号 181 頁～200 頁) 著者は、遊離 SH 基を有する Cysteine, Cystamine (MEA) の放射線防禦効果を培養組織を用いて検討した。その結果は併せ行なつた動物実験における成績ほど著明ではないが、Cysteine, MEA とともに培養 L 細胞に対しても防禦効果を発揮することが認められた。

今回は、分子構造において、遊離 SH 基を欠く S-2-Aminoethylisothiuronium bromide H Br (AET), Cystamine 及び α -Homocysteinethiolactone (HCT) について前回と同様の方法で防禦効果を検討した。ただし、AET は水溶液中 Mercaptoethylguanidine (MEG) に移行し、遊離 SH 型として溶存することが確認されている¹⁵⁾¹⁶⁾。

今回の実験目的の一つは、Bacq ら及びその他多くの研究者達が主張する如く、これら遊離 SH 基を欠く防禦物質においては、遊離 SH 基を有する防禦剤と作用メカニズムが異なるため in vitro と vivo における防禦活性に相当の開きがあるとされている点を培養細胞を用いて確認するにある。すなわち disulfide 型の Cystamine のばあい、生体内で Histamine を遊離し、末梢血管の強度の拡張作用から Hypotonia を惹起せしめることによつて、防禦効果を発現するものと説明されている。このうらづけとしては、Cystamine の防禦効果が抗 Histamine 剤の作用によつて消滅すること、および、Cystamine (MEA) が invitro で X 線によるエンドウの芽の生長阻害に抑制的に作用するに反し、Cystamine は無効であり、それにも拘らずマウスの生存率試験

では両者共に効果的であるという点である。

この考え方は Cystamine の放射線防禦作用として生体に対するその薬理学的作用を支配的に考えるものであるが、一方 Cystamine は体内で glutathione reductase により還元されて 2 分子の MEA を生成し、それが効果的に作用するとする説もある。何れにしても、L 細胞に対する Cystamine の放射線防禦効果を検討することにより、これら作用仮説に何らかの寄与を与えうるものと思われる。

S-2-Aminoethylisothiuronium bromide H·Br (AET) については、1955 年 Doherty ら¹⁷⁾が Mercaptoalkylamine 類が防禦活性を示すに必要な限界構造を追求した結果、強い効力を発揮する AET を発見した。彼らは、C₅₇ BL, C₃H, および 101×C₃H マウスを用い、照射前 10 分、pH 6.5~6.8 にした AET を、240~480 mg/kg 腹腔内に投与し、C₅₇ BL は 950r (LD 100~28), C₃H および 101×C₃H は 800 r (LD 100~28) をそれぞれ照射したところ、240 mg/kg 投与群は生存率が 33~80% にも及び、有意に効力を現わすことを観察した。

Langendorff ら¹⁸⁾は 1956 年、純系ラットを用い、30mg/ラット照射前 10 分、腹腔内に注射し、又、照射前 30 分、80mg/ラットを経口投与し、500r 全身一時照射したところ、30 日生存率を引き上げ得たが、腹腔内投与群の成績が良いのに比し、経口投与群は思わしくなかったと報告している。

1957 年、Crough¹⁹⁾は macaca mulatta monkey を用い、照射直前 100~400 mg/kg 量を腹腔内投与し、500r 全身一時照射したところ、200~250 mg/kg 投与群では LD 50~30 をひき上げることに成功した。又彼の別の報告では、同じく macaca mulatta monkey を使用し、650 r (LD 100~30) 全身一時照射したところ、あらかじめ 200~250 mg/kg 投与しておけば、生存日数が延長し 173 日まで生存することが見出された。

in vitro では、1958 年 Markov²⁰⁾が 0.4mg/ml 当て 600r 照射前後に分けて S₃HeLa 細胞に添加した実験では、照射前投与群については効果があつたが、照射後投与では効果なしと報告している。

1962 年、Vos ら²¹⁾は human kidney cell を用い、clonic method で効果判定の目安としている。すなわち、放射線に対する効果は、LD 50 に相当する値が、1000 r 前後であるに対し、16 mM, 128 mM 添加すれば、それを 2500~3000 r にもひきあげ、相当効果的であるという。

又、1964 年、Per Eker ら²²⁾の報告では、L-Cell を用いて Haemocytometer による細胞計数法により判定した結果、500r 照射のばあい、 2×10^{-3} Mol の濃度で有意に高い protection 効果が認められるが、1000 r 照射ではその効果はほとんど認められていない。以上、AET の放射線防禦効果については、実験動物系においても、また培養細胞系においても、効果が認められてきている。この点、AET の分子構造は遊離 SH 基マスク型ではあるが、放射線に対しては遊離 SH 型として作用することは、これら諸家の報告からは疑問の余地はないであろう。

Cystamine については、先に Bacq らは総べて遊離 SH 基を有する防禦剤が、経口投与によつては効果を現わさないのに比して、Cystamine は化学的に安定であつて、経口投与によつても効果を示す²³⁾ということを実証し、Cystamine の防禦活性の特徴づけを行なつたが、Bacq らの他の報告²⁴⁾ Langendorff ら²⁵⁾及び、Rugh ら²⁷⁾によつても、ラットおよびマウスに対するその放射線防禦効果は、Cystamine の開裂物質であり、遊離 SH 基をもつ MEA の効果と同様に有効であることが知られている。

組織培養を用いての効果の検討は、1957 年、Trabert-Van den Maesen²⁸⁾らの鶏胎児の fibroblasten を用いての実験、及び Booz²⁹⁾の mouse spleen 細胞を用いての実験、又 1958 年、Oftedal ら³⁰⁾³¹⁾の鶏胎児心臓組織を用いての研究がみられるが、何れも防禦効果を認めていない。本邦でも 1961 年、大平³²⁾が Rolle Tube 法で培養されたニワトリ胚心臓組織を用いて検討しているが、ここでも Cystamine の X 線に対する防禦効果は認められていない。すなわち、Cystamine の放射線防禦効果は、培養組織系では認められていないのが現状である。

Homocysteinethiolactone (HCT) について、1957~1958 年、Braun ら³³⁾³⁴⁾及び、Langendorff ら³⁵⁾が遊離 SH 基を持たぬ HCT が、腹腔内および経口投与でも効果的であるということを報告している。彼らによれば、HCT は in vivo で Homocysteine に開裂して放射線防禦効果を発現するものであつて、その結果、生物学的毒性の点においても又防禦効果の有効時間の点においても、すなわち、実地応用上、Cysteine-Cysteamine 系の遊離 SH 基をもつ SH 剤に比し、HCT は優れた防禦剤であると述べている。このように、HCT はラクトン開裂酵素の存在において、放射線防禦活性を有し、すなわ

ち Homocysteine としての防禦作用をあらわすことが知られているが、これは実験動物系における成績からの帰納によるものであつて、従来組織培養法を用いて *in vitro* における実験成績から逆に立証した報告は皆無である。

以上、AET, Cystamine および HCT についての従来の放射線防禦効果に関する研究経過の概略を述べたが、水溶液中で MEG に移行することが知られている AET をのぞき、Cystamine および HCT は *in vivo* では遊離 SH 剤と同様或いはそれ以上に効果的であるが、一方 *in vitro* では効果が認められず或いは期待されていない。しかしこれらの報告のうち、とくに組織培養系を用いた研究のすべてが、はたして、実験方法において、十分に満足するものであるかどうか疑問であり、むしろ関連諸科学のレベルアップを背景に更に詳細な検討が続けられねばならぬものと考えられる。著者はかかる意味において第1編に述べた如き定量化された実験方法によつて、L細胞系に対する AET, Cystamine および HCT の放射線防禦効果を細胞増殖の面から検討し、従来の定説の再検討を試みた。

II 実験材料および方法

A 使用線源および照射条件

放射線線種はX線で、線源は東芝 KXC-18型X線発生装置を用いた。

照射条件は第1編⁽⁴⁾ (本巻収録)と同様、管球電圧 200KV, 管電流 25mA, Filter 0.5mm Cu+0.5mmAl, 焦点被照射体間距離 50cm, 線量率 80~90 r/min にて、動物照射の場合は700r全身一時照射、培養細胞照射のばあいは 400r, 800r および1600r の各線量を一時照射した。尚照射の度毎にVictoreen Condenser-r-meter にて測定し正確を期した。なお照射のむらを少なくすべく、とくに回転台を試作して用いた。(回転数33/min)

B 使用細胞および培養方法

使用細胞は、当衛生学教室にて継代培養せるL株細胞(東京大学伝染病研究所。勝田→岡山大学医学部妹尾病理学教室→当教室)を用い、細胞浮游液培養法を行なつた。

培養液は、YLE 培地 (Yeast extract-Lactalbumin Earle medium) に牛血清を加え、更にペニシリン、ストレプトマイシンを添加調製した。

培養液 pH は NaHCO_3 にて修正し、7.2~7.6とした。牛血清濃度は、細胞の増殖および維持のため、

培養には10%とし、照射実験のための培養には5%とした⁽⁴⁾。

細胞の増殖および維持に用いた培養法は、stock culture を均等な浮游液とし、その 1ml をとり、トリプシン処理を行ない血球計算盤にて細胞数を計数し、残液は培養液を用いて細胞数 120 ± 25 個/mm³ 希釈、角型培養ビンに 10ml あて分注して孵卵器中 37°C に保持した。この操作を1週間毎にくり返し、その間、分注3日目(72時間後)に培地交換を行なつた。

照射実験には、前記維持培養の一部を用い、直接トリプシン処理後 TD-15 管に 3ml あて分注 (濃度 80 ± 10 個/mm³)、48時間後(2日目)薬剤を注入して直ちにX線照射後直ちに培地 1ml あて3回洗滌。新たに培地 3ml を注入して培養を継続。照射後48時間(2日目)および96時間(4日目)における細胞濃度を血球計算盤を用いて計数した。

トリプシン処理にあつては、Trypsilin mochida (持田製薬) 200H. U. M. (Hemoglobin Unit of mochida)/1ml の培液を、培地の 1/10 量添加し、細胞数計数後直ちに所定の細胞数濃度に希釈 (6~12倍) するため、本実験培養期間中には細胞発育阻害は見られなかつた。

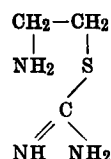
以上の実験操作により、非照射対照群、X線照射群、薬剤添加群および薬剤添加X線照射群(各群6~8例)の細胞群濃度と比較検討し、添加薬剤のX線照射に対する効果判定を行なつた。

C 使用薬剤および薬剤濃度

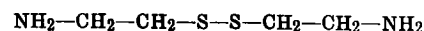
薬剤は、S-2-Aminoethylisothiuronium Br·HBr (Nutritional Biochemicals Corporations, Cleveland, Ohio) および Cystamine 2 Hcl (Nippon Shinyaku Co., LTD.) および Homocysteinethiolactone (Nutritional Biochemicals Corporations, Cleveland, Ohio) を使用した。

構造式は以下の通りで、いずれも遊離 SH 基を有しない。

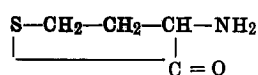
S-2-Aminoethylisothiuronium Br·HBr (AET)



Cystamine



Homocysteinethiolactone (HCT)



これら薬剤の放射線予防活性は C₅₇ BL マウスを用いて予め確認した。すなわち C₅₇ BL マウス ♂ (生後3~8カ月, 体重 16.5~29.0g) を照射対照群および薬剤投与照射群に分け, AET 250 mg/kg, Cystamine 150 mg/kg および HCT 500 mg/kg をそれぞれ腹腔内投与後直ちに X 線照射, 照射後3日間の生存率を観察し, 薬剤の効果を判定した。その結果は表1に示す如く, 照射対照群14%, AET 投

表 I 700r 全身一時照射 C₅₇ BL マウスの30日生存

率 群 別	動物数	30日 生存数	生存率	有 意 差 の 検 定
照射対照群	22	3	14%	***
A E T	8	6	75%	
Cystamine	10	6	60%	
H C T	10	3	30%	

*** 0.1%以下の危険率で有意差

与群75%, Cystamine 投与群60%, および HCT 投与群30%の30日生存率が得られた。これらを X² 検定の結果, AET 投与群および Cystamine 投与群ともに0.1%以下の危険率で照射対照群に比して生存率が有意に高く, また HCT についても統計的には有意差が出なかったが, 照射対照群に比して2倍という率で生存率が得られたことは, これら購入薬剤の X 線防禦効果を確かめたということが出来る。

使用薬剤濃度は, 予め濃度別の毒性の検討を行ない, O. Vos et al²¹⁾ の報告, ならびに P. Eker および A. Pihl ら²²⁾ の報告と比較検討し乍ら適用濃度を決定した。

AET については, 10⁻¹ Mol, 10⁻²M, 10⁻³M, 10⁻⁴ M, Cystamine については, 10⁻¹Mol, 10⁻²M, 10⁻³ M, 10⁻⁴M, 10⁻⁵M, HCT については, 10⁻⁴Mol, 10⁻⁵ M のそれぞれの濃度となるとく, 細胞培養液に添加し細胞に接触せしめ, 室温にて10~20分の薬剤接触時間を経て薬剤添加培地は捨て, 培地で洗滌後, 新たに培地 3ml を注入し, 培養を継続し, 2日目および4日目の細胞数を検討し, AET では 10⁻³Mol, 10⁻⁴M, Cystamine および HCT では 10⁻⁴Mol, 10⁻⁵ M の濃度をそれぞれ実験に用いた。

薬剤溶液の調製は, 前報に述べた如く, 使用直前適当な濃度になる如く, 培地に溶解せしめ, 各培養ビンに培養液量の 1/10 量を添加して必要終濃度を得るようにした。この間薬剤溶液の濾過滅菌を行な

わなかつたが, 薬剤の保存, 秤量, 溶解に際して, 無菌的操作を心がけた結果, 殆んど薬剤による細菌感染を免れることが出来た。

III 実験成績

A 実験条件の検討

1 培養細胞数初濃度に関する検討

前報¹⁴⁾ で報告しているので詳細は省くが, 初濃度の高低が細胞生長に影響し, 高濃度 (85ヶ/mm³以上) では時間の経過とともに浮游細胞が増し, パラッキの度合が増大した。また, 低濃度では生長が比較的不安定と認められたため, 著者は 80ヶ/mm³ の初濃度となるようにした。

2 照射線量および細胞計数時期の検討

照射線量については, 400r, 800r, および 1600r のそれぞれについて細胞増殖の推移を検討した結果, 400r, 800r の2種を実験に用いた。この詳細は前報¹⁴⁾ に述べた如くである。

細胞計数時期についても, 前報¹⁴⁾ で詳述したごとく, 種々の要因につき考察した結果2日目 (48時間後) と4日目 (96時間後) に測定することとした。尚途中, 培地交換を行なうと更に効果判定に有利となる利点も考えられるが, しかし培地交換という他因子の介入による影響とのバランスを恐れたため, あえて培地交換を行わずして経過を観測したものである。

3 薬剤使用濃度に関する検討

AET, Cystamine および HCT の毒性について各濃度別に検討した。すなわち, AET については, 10⁻¹ Mol, 10⁻²M, 10⁻³M, 10⁻⁴M, Cystamine については, 10⁻¹Mol, 10⁻²M, 10⁻³M, 10⁻⁴M, 10⁻⁵M, HCT については 10⁻⁴Mol, 10⁻⁵M のそれぞれの濃度で L 細胞増殖におよぼす影響を検索した。

その結果は表 II, III, IV, および図 1, 2, 3 に示す通りである。

以上の成績から判明するように, AET, Cystamine, HCT の L 細胞増殖におよぼす影響は, 薬剤濃度が高くなるにつれて阻害作用が甚しくなるとい一般傾向が観察された。本実験の目的である予防効果を云々する場合, 薬剤自体の有害因子が入る恐れのある濃度は避けなければならない。著者はこれらのデータを統計的に処理し, 使用濃度を決定した。AET においては, t 検定の結果, 2日目および4日目ともに10⁻⁴M では無処理対照群との間に差はないが, 10⁻³M 以上の濃度では, 対照群に比して1

表 II L細胞増殖におよぼす AET の影響

	処 理 2 日 目		処 理 4 日 目	
	細胞数 (個/mm ³) 平均値±標準偏差	対照群に對する割合 (%)	細胞数 (個/mm ³) 平均値±標準偏差	対照群に對する割合 (%)
無 処 理 対 照 群	203.9±36.0	100.0	280.8±44.7	100.0
AET 10-1M 処 理 群	28.3±10.2	13.7	17.5± 4.5	6.0
“ 10-2M “	100.0±17.0	49.2	63.1±18.5	22.5
“ 10-3M “	129.6±32.1	63.5	180.8±23.6	64.2
“ 10-4M “	177.1±38.7	87.2	254.7±43.7	90.7

添加時細胞数 123.9±15.4

(例数: 両測定時おのおの対照群 14, 10-1M 群 6, 10-2M 群 6, 10-3M 群 14, 10-4M 群 14)

表 III L細胞増殖におよぼす Cystamine の影響

	処 理 2 日 目		処 理 4 日 目	
	細胞数 (個/mm ³) 平均値±標準偏差	対照群に對する割合 (%)	細胞数 (個/mm ³) 平均値±標準偏差	対照群に對する割合 (%)
無 処 理 対 照 群	165.7±48.5	100.0	247.0±60.4	100.0
Cystamin10-1M 処 理 群	51.2±10.9	30.9	50.8±27.6	20.2
“ 10-2M “	66.6±17.6	40.0	72.5± 8.7	29.1
“ 10-3M “	98.3± 7.4	59.3	117.9±49.4	47.3
“ 10-4M “	147.1±31.1	89.0	199.6±43.9	80.5
“ 10-5M “	135.8±28.5	81.8	211.5±24.5	85.5

添加時細胞数 77.8±8.1

(例数: 両測定時おのおの対照群17, 10-1M 群 6, 10-2M 群6, 10-3M 群 6, 10-4M 群 12, 10-5M 群 6)

表 IV L細胞増殖におよぼす HCT の影響

	処 理 2 日 目		処 理 4 日 目	
	細胞数 (個/mm ³) 平均値±標準偏差	対照群に對する割合 (%)	細胞数 (個/mm ³) 平均値±標準偏差	対照群に對する割合 (%)
無 処 理 対 照 群	164.4±40.6	100.0	253.3±48.1	100.0
HCT 10-4M 処 理 群	136.2±51.2	82.9	283.7±44.7	111.8
“ 10-5M “	159.0±32.4	96.9	267.2±32.1	105.5

添加時細胞数 79.3±21.5

(例数: 両測定時おのおの対照群 14, 10-4M 群 10, 10-5M 群 10)

%以下の危険率で有意に細胞数が少ない。

Cytamine については、2日目では、10-4M, 10-5M, とともに対照群に比し差は認められない。4日目10-4Mでは5%以下の危険率で細胞が有意に少く、10-5Mの濃度では差が認められない。

HCTについては、2日目、4日目ともに、10-4M, 10-5Mの濃度で差を認めない。

以上のデータからすれば、AET 10-3Mの濃度では、2日目、4日目とも無処理対照群に比して有意に細胞増殖が抑制されているが、molar basisにおける極めて卓越したAETの生物学的放射線防禦活性にかんがみ、薬剤毒性よりも防禦活性の発現に

比重を移したデータを得るため、AETについてのみこの濃度を採用した。

以上の理由で著者は、AETでは10-3M, 10-4M, Cystamineでは10-4M, 10-5M, HCTでは10-4M, 10-5Mの各濃度に決定した。

尚、HCT 4日目において、10-4M, 10-5Mともに対照群より細胞増殖度が高いことは、この場合、実験上のミスによるものか、事実当薬剤の添加によって増殖が促進されているのか不明であるが、Vosら²¹⁾の報告でも、薬剤添加によって一部対照群より生長が延びているデータも見受けられる。

B. 組織培養実験成績

図1 L細胞増殖曲線におよぼすAETの影響

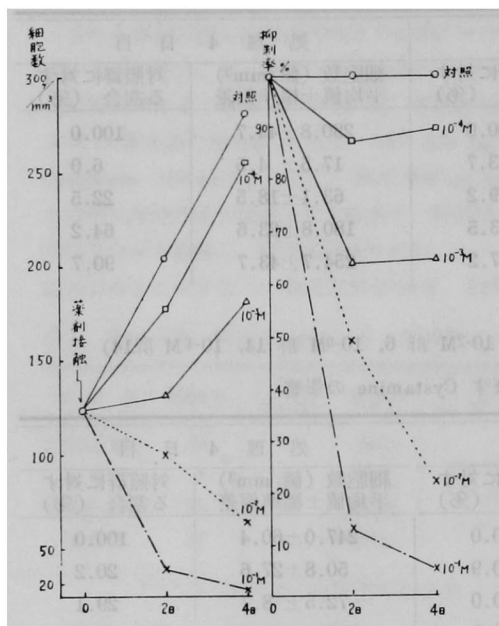
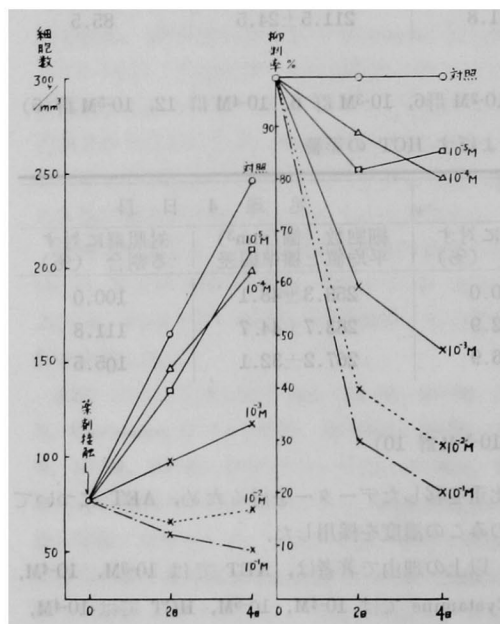


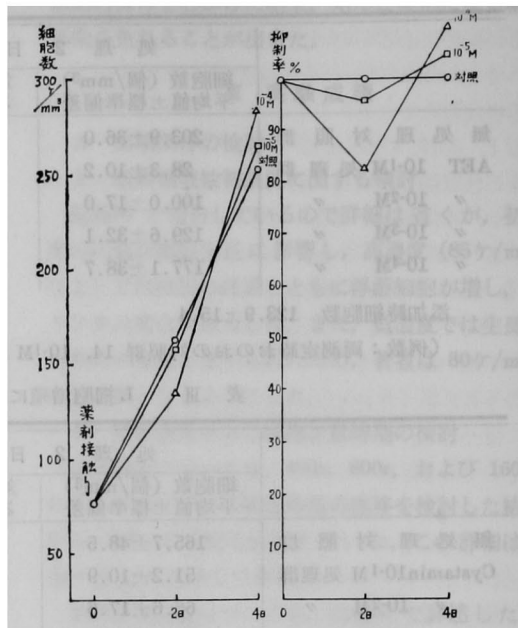
図2 L細胞増殖曲線におよぼすCystamineの影響



本編A項で検討した諸成績を基にして、AET, Cystamine, HCT 各薬剤添加が、L株細胞のX線障害に対して如何なる影響をおよぼすかを、細胞数の変化を指標として検討した。

1. X線照射L細胞に対するAETの防禦効果
TD-15管に分注、培養せるL細胞に、培地中濃度 $10^{-3}M$, $10^{-4}M$ となるようにAETを添加、400r,

図3 L細胞増殖曲線におよぼすHCTの影響



800rのX線照射を行ない、直後、培地を洗滌交換して培養を継続、48時間後、および96時間後の細胞数を計数し、同時に培養せる非照射対照群の細胞数と比較検討した。これらの測定データを表V、図4および5に示す。

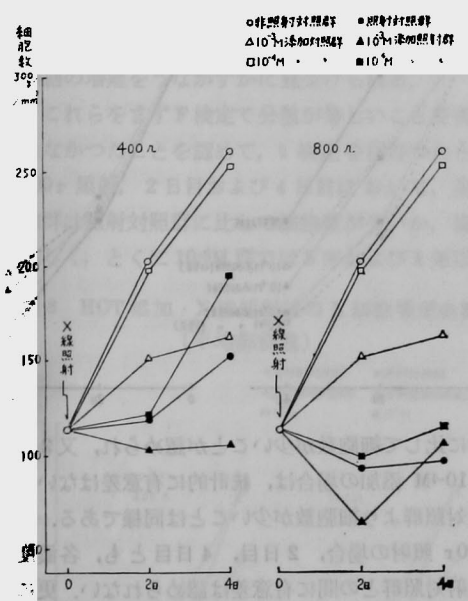
照射線量別に見ると、400rよりも800rの方によりX線の影響が甚しく、しかも、各線量とも2日目より4日目にX線による障害が増幅されて来ている。一方各濃度別に防禦効果を見ると、薬剤無添加のものは2日目から4日にかけて漸次細胞数比が減少して行くにもかかわらず、薬剤添加のものは、ほとんど等しいか、或いは、漸次増加の傾向を見せているのは薬剤の障害回復に対する促進的作用を思わせ興味あることである。ただ400r照射の場合、すなわちX線負荷が比較的少ない場合には薬剤自体の毒性による障害の比重が重く、これが $10^{-3}M$ 添加群における測定成績に細胞数比の減少という形で現われてきたものと思われる。これらの成績につき、F検定にて分散が等しいことを確認した後、t検定を行なつたところ、400r照射、2日目では薬剤の効果はほとんど見られない。しかし4日目に至ると $10^{-4}M$ 添加群細胞数は、対照群細胞数に比し、5%以下の危険率で有意に多く、薬剤の防禦効果が認められる。又、800r照射、2日目では、ほとんど効果は見られないが、4日目において $10^{-3}M$ および $10^{-4}M$ 添加群に、それぞれ5%および1%以下の危

表 V X線照射L細胞に対するAETの予防効果

		照射 48 時間 後		照射 96 時間 後	
		細胞数 (個/mm ³) 平均値±標準偏差	非照射対照群に 対する割合(%)	細胞数 (個/mm ³) 平均値±標準偏差	非照射対照群に 対する割合(%)
非 照 射 対 照 群		203.1±26.1	100.0	271.9±41.6	100.0
薬 剤 対 照	AET 10 ⁻³ M 添加群	154.1±21.7	75.9	175.9±22.3	64.7
	" 10 ⁻⁴ M "	198.4±29.0	97.7	258.8±45.8	95.2
400r照射	照 射 対 照 群	139.2±15.1	68.5	154.4±28.8	57.0
	AET 10 ⁻³ M 添加群	108.8±18.8	53.6	111.7± 9.1	41.1
	" 10 ⁻⁴ M "	140.4±10.3	69.1	190.3±20.0	70.0
800r照射	照 射 対 照 群	85.8±12.8	42.2	93.1±13.9	34.3
	AET 10 ⁻³ M 添加群	77.5±15.1	38.2	113.4±17.4	41.7
	" 10 ⁻⁴ M "	98.8±15.7	48.6	130.9±20.1	48.1

照射時細胞数 127.5±10.5

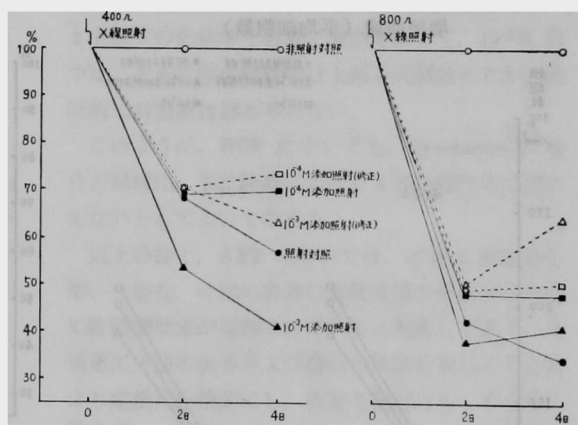
(各群, 各測定時期において6~10例)

図4 AET添加・X線照射後のL細胞増殖曲線
(平均細胞数)

險率で有意に細胞数が多い。

これらの事実から、一般にX線の防禦効果は2日目よりもむしろ4日目においてとらえ易い。このことは低線量負荷における程妥当するものであつて、すなわち、障害増幅の経過を置かなければ、薬剤の防禦効果を具体的数字としてあらわすことは難しいものと考えられる。また一方、薬剤の過重負荷のばあい、低線量照射による障害の修飾効果は表現されにくい、しかしX線障害が極端にあらわれる高線量照射において次第にその防禦効果の本質をしめ

図5 AET添加・X線照射によるL細胞増殖抑制曲線



してくることは、先にも触れた10⁻³M添加の例から明かである。このようなAETの修飾効果は障害を受けた細胞をより早く回復せしめる役割を演ずる点においてX線の影響を未然に防ぐものと見受けられる。第1編¹⁴⁾に述べた方法により、AETの毒性の影響を消去して見ると、図5に見られる点線がえられ、総てX線照射対照群より細胞増殖抑制度が低い。

2. X線照射L細胞に対するCystamineの防禦効果

AETと同様な方法で、X線照射L細胞に対するCystamineの添加効果を検討した。その成績を表VI、図6および7に示した。

はじめに、A頃の薬剤毒性試験の成績に比し、今回の薬剤対照群の成績では、10⁻⁴M、10⁻⁵Mの毒性がかなり低く出ていることが注目される。これらの

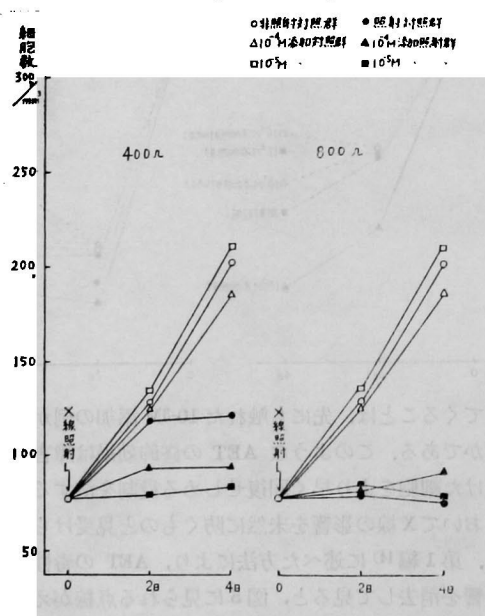
表 VI X線照射L細胞に対するCystamineの予防効果

		照 射 48 時 間 後		照 射 96 時 間 後	
		細胞数(個/mm ³) 平均値±標準偏差	非照射対照群に 対する割合(%)	細胞数(個/mm ³) 平均値±標準偏差	非照射対照群に 対する割合(%)
非 照 射 対 照 群		128.7±22.1	100.0	201.2±20.6	100.0
薬 剤 対 照	Cystamine10 ⁻⁴ M添加群	126.6±24.7	98.3	185.3±45.7	92.0
	" 10 ⁻⁵ M "	135.8±30.2	105.5	211.5±24.1	105.1
400r照射	照 射 対 照 群	117.5±28.4	91.2	121.2±18.6	60.2
	Cystamine10 ⁻⁴ M添加群	94.6±20.5	73.5	94.3±20.6	46.8
	" 10 ⁻⁵ M "	78.1±23.1	60.6	82.5±17.9	40.9
800r照射	照 射 対 照 群	78.1± 9.5	60.6	75.6±32.1	37.5
	Cystamine10 ⁻⁴ M添加群	80.3±12.1	62.3	92.1±12.2	45.8
	" 10 ⁻⁵ M "	84.6± 8.3	65.7	75.5±26.7	38.0

照射時細胞数 76.5±7.0

(各群, 各測定時期において6~8例)

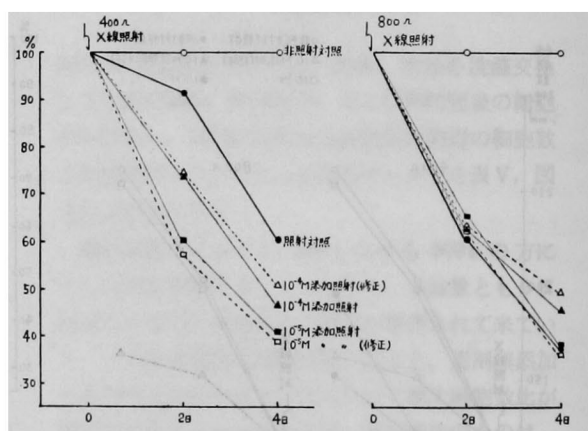
図 6 Cystamine添加・X線照射後のL細胞増殖曲線(平均細胞数)



如く, 実験時期により測定結果にある程度の差が出ていることは, 方法論的な問題点を示すものと思われる, その点ここでは論じたいが, この場合, 同時に得られた薬剤対照結果をもとにすべきであろう。

照射対照群と, 薬剤添加照射群との細胞数平均値について, F検定により分散が等しいことが否定されなかつた場合, t検定を行なつて見ると, 400r照射の場合, 2日目の10⁻⁴M添加群を除き全て1%および5%以下の危険率で有意に添加群の方が照射対

図 7 Cystamine添加・X線照射によるL細胞増殖抑制曲線



照射群に比して細胞数が少いことが認められ, 又2日目, 10⁻⁴M添加の場合は, 統計的に有意差はないが, 照射対照群より細胞数が少いことは同様である。

800r照射の場合, 2日目, 4日目とも, 各濃度で照射対照群との間に有意差は認められない。更にAETの項で処理したごとく, Cystamine自体の影響を消去して見ると, 図7に点線で示したとき修正曲線が得られ, 照射対照群との間にほとんど差を認め得ぬ結果となる。わずかに, 800r照射4日目において, 10⁻⁴M添加群の細胞増殖抑制度が少いが, しかし統計的に差はなく, 従つて本実験系においては, CystamineのX線防禦作用は認め難いものと結論せざるを得ない。

3. X線照射L細胞に対するHCTの防禦効果

AET, Cystamineと同様な方法で, X線照射L細胞

表 VII X線照射L細胞に対する HCT の予防効果

		照 射 48 時 間 後		照 射 96 時 間 後	
		細胞数 (個/mm ³) 平均値±標準偏差	非照射対照群に 対する割合(%)	細胞数 (個/mm ³) 平均値±標準偏差	非照射対照群に 対する割合(%)
非 照 射 対 照 群		156.6±20.7	100.0	230.0±22.2	100.0
薬 剤 対 照	HCT 10 ⁻⁴ M 添加群	153.7±33.4	98.1	271.2±24.1	117.9
	" 10 ⁻⁵ M "	190.0±20.7	121.2	267.0±33.1	116.1
400r 照射	照 射 対 照 群	134.1±17.6	85.6	162.5±18.7	70.6
	HCT 10 ⁻⁴ M 添加群	134.1±34.4	85.6	143.7±57.0	62.5
	" 10 ⁻⁵ M "	105.8±17.3	67.5	114.5±22.2	49.8
800r 照射	照 射 対 照 群	120.8±12.8	83.1	143.3±11.2	62.3
	HCT 10 ⁻⁴ M 添加群	96.6±12.4	61.7	77.9±14.2	33.8
	" 10 ⁻⁵ M "	136.2±17.1	86.9	146.2±24.9	63.5

照射時細胞数 95.0±11.8

(各群, 各測定時期において6例)

胞に対する HCT の添加効果を検討し, その結果を表VII, 図8および9に示した。

その結果, 前記 Cystamine と同様, 薬剤の毒性がほとんど認められない。むしろ薬剤添加が反って細胞の増殖をうながすかに見受けられる。

これらをまず F 検定で分散が等しいことを否定されなかったことを認めて, t 検定を行なったところ, 400r 照射, 2日目および4日目において, 薬剤添加群は照射対照群に比して細胞数が少いか, 或いは等しく, とくに 10⁻⁵M 群では5%および1%以下の

危険率で有意に少い。800r 照射では, 10⁻⁴M 添加群は2日目および4日目とも, 照射対照群に比して, 1%以下の危険率で有意に細胞数は少く, 10⁻⁵M 群では, とともに僅に細胞数は上廻る成績はえたが, 統計的に有意差は認められない。

このように, HCT においても, Cystamine の場合と同様に, 本実験系における X 線防禦作用は認めえないとしてよいであろう。

以上の如く, AET においては, 培養 L 細胞系を用いた場合, 今回の著者の実験成績の分析からその X 線防禦効果が発揮されていると判断して良く, 今後更に方法の改善および資料の集積を重ねることにより定量化を精密にし, 実証を完璧ならしめうるであろう。

しかし, 他方 Cystamine, および HCT について

図8 HCT 添加・X線照射後のL細胞増殖曲線 (平均細胞数)

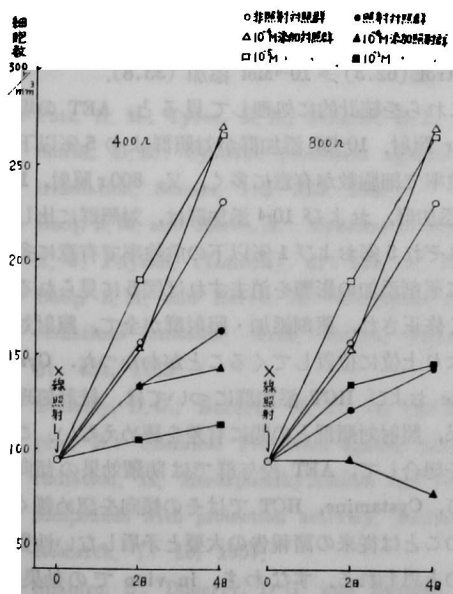
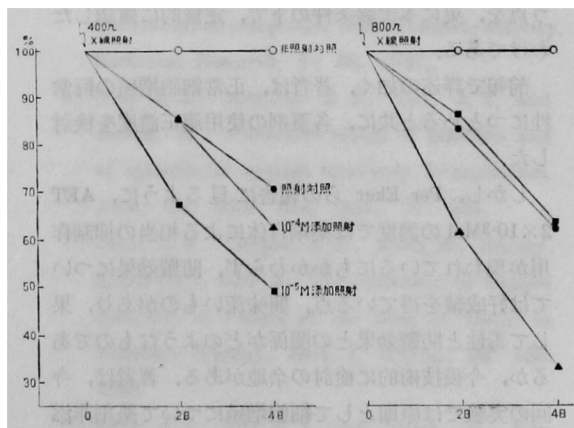


図9 HCT 添加・X線照射によるL細胞増殖抑制曲線



は、動物実験系では規則正しいX線防禦効果を認め得たが、この培養実験系においては、効果は全然認めることが出来なかつた。これらは、すでに結論でもふれたごとく、AETのみは、水溶液中では Mercaptoethylguanidine (MEG)に移行し、遊離SH型として溶存するが、Cystamine, HCTはin vitroで活性遊離SH基を欠く化学構造上の差が以上の如き作用メカニズムの相違の一因としてあらわれて来たものと推論することは、決して非論理的な考えではないであろう。

IV 考按および総括

前報において著者は、化学的防禦剤である Cysteine, および Cystamine (MEA)について、放射線防禦効果を検討し、L細胞を用いての組織培養の本条件下で、有効であることを報告した。これらは、Bacqら²⁾³⁶⁾³⁷⁾およびPattら¹⁾その他諸家の動物実験結果とも一致し、また、in vitroでの実験では、Vosら²¹⁾およびPer Ekerら²²⁾の成績と、濃度の点を除いてほぼ似通つたものであつた。又大平ら³⁸⁾の成績とも一致した。

Cysteine および MEA は、いずれも遊離SH基を有する薬剤であるが、今回実験に使用したものは、構造上遊離SH基を欠くAET, Cystamine およびHCTの3種のSH剤である。ただしAETのみは生体系の関与なしに水溶液中でグアニジン転移を起し、遊離SH基を生じることが知られている。

著者は、AET, Cystamine, HCTともに動物実験では極めて有効性を発揮するにもかかわらず、Cystamine, HCTの遊離SH基を持たぬ薬剤のin vitroでの防禦効果は、Trabert-Van Maesen²⁸⁾, Booz²⁹⁾, Oftedalら³⁰⁾³¹⁾, およびPer Ekerら²²⁾, 大平ら³²⁾の報告で見られるように、効果が期待出来ないという点を、更に本実験条件の下で、定量的に確認したわけである。

前報で詳述の如く、著者は、正常細胞増殖の恒常性につとめると共に、各薬剤の使用適正濃度を検討した。

しかし、Per Ekerらの報告に見るように、AET 2×10^{-3} Molの濃度では薬剤自体による相当の抑制作用が現われているにもかかわらず、防禦効果については好成績を得ている点、興味深いものがあり、果して毒性和防禦効果との関係がどのようなものであるか、今後技術的に検討の余地がある。著者は、今回の実験では原則として細胞増殖について薬剤非添

加のばあいと統計的に有意差を示さない範囲の濃度を実験に供した。これによると、毒性効果は低濃度のものほど抑制は少い。

しかし、Vosら²¹⁾の報告では、6mMol($\approx 10^{-2}$ Mol)で毒性は最低であるが、その濃度より増加すると毒性はふえる。又、この濃度より下ると、再び毒性が増加し、1mMolで毒性が大となる。更に、 $1/8$ mMol($\approx 10^{-4}$ Mol)では逆に、毒性が少くなる傾向を示している。この事実をどう理解するか、薬剤の本質的性質に由来するものか或は単に技術的問題であるか、今後研究のなされるべきことである。

その他、培養条件、照射条件、効果判定法については、前報¹⁴⁾と同様の方法を用いた。それらについての考察は、前報に詳述したのでここでは再掲を避ける。

さて実験結果について総括すると、各群の成績は次の通りで、AETでは400rの場合、nonirrad. Control (100) > 10^{-4} Mol 添加 (70.0) > Radiation Control (57.0) > 10^{-3} Mol 添加 (41.1)。800rの場合、nonirrad. control (100) > 10^{-4} Mol 添加 (48.1) > 10^{-3} Mol 添加 (41.7) > Radiation Control (34.3)。Cystamineでは、400rの場合、nonirrad. Control (100) > Radiation Control (60.2) < 10^{-4} Mol 添加 (46.8) > 10^{-5} Mol 添加 (40.9)。800rの場合、nonirrad. Control (100) > 10^{-4} Mol 添加 (45.8) > 10^{-5} Mol 添加 (38.0) > Radiation Control (37.5)。HCTでは、400rの場合、nonirrad. Control (100) > Radiation Control (70.6) > 10^{-4} Mol 添加 (62.5) > 10^{-5} Mol 添加 (49.8)。800rの場合、nonirrad. Control (100) > 10^{-5} Mol 添加 (63.5) > Radiation Control (62.3) > 10^{-4} Mol 添加 (33.8)。

これらを統計的に処理して見ると、AETの場合、400r照射、 10^{-4} M 添加群が対照群より5%以下の危険率で細胞数が有意に多く、又、800r照射、 10^{-3} M 添加群、および 10^{-4} 添加群は、対照群に比し、それぞれ5%および1%以下の危険率で有意に多い。更に薬剤添加の影響を消去すれば図5に見られるごとく修正され、薬剤添加・照射群が全て、照射対照群より上位に位置してくることがわかつた。Cystamine および HCT 添加群については、統計処理の結果、照射対照群との間に有差を認めえない。これらを総合して、AET 投与群では防禦効果の傾向があり、Cystamine, HCT ではその傾向を認め難く、このことは従来の諸報告の主要と矛盾しない性質のものと思われる。すなわち、in vivoでの効果と、

in vitro での効果の相違は, Bacq らの見解によると, 遊離 SH 基を持たぬ薬剤でも, 生体内 (in vivo) では分解して遊離 SH 基を有する薬剤と同様な作用をすると見なしているもので, 培養細胞系を用いた著者の実験によつても, この説の正当性が否定されなかつたと言つてよい。換言すれば, Cystamine および HCT の生物学的放射線防禦活性のメカニズムとして, 少くとも体内におけるこれら薬剤の還元と SH 基の遊離とが関与するであろうことが, in vitro 系実験によつて立証しえたものと解釈される。このことは更に進めて, 優れた遊離 SH 型防禦剤は, $\text{HO}_2\cdot$ と高い反応性を有し, この性質の故に X 線の致死作用に重要な役割を演じているこの $\text{HO}_2\cdot$ を効果的に捕捉し, 結局 $\text{HO}_2\cdot$ に対して生物分子と拮抗的に機能するとする Bacq らの主張³⁰⁾を間接的に支持する結果となる。また逆に言えば, Cystamine および HCT の拮抗的防禦作用説は, 著者の実験によつて, 否定されたことになるが, この点の断定については今後の技術的改善による詳細な検討にまつべきであり, Cystamine の薬理学的全身作用による防禦効果説については, 今回の実験から触れることは出来ない。

最後にこれら検討薬剤の実地面について言及するならば, 遊離 SH 基を有せぬ薬剤でも, 経口投与では, 有効であつたとの Bacq²³⁾, Braun³³⁾, Langendorff³⁵⁾ らの報告は極めて興味ぶかい。Bacq はこれらの事実より演繹して, 臨床面への応用を示唆している⁴⁰⁾。

著者は, 将来, これら薬剤の臨床面への応用の可

能性に期待して, 総括を終りたい。

V 結 論

培養 L 細胞を用いて, AET, Cystamine および HCT の放射線に対する防禦効果を検討し, 次の結果を得た。

1. AET 10^{-4}Mol 添加 400r および 800r 照射両群は単独照射群に比して, 細胞数が有意に高く, 培養 L 細胞に対する X 線防禦効果が, 明かに認められた。
2. AET 10^{-3}Mol 添加群では, 800r 照射のばあい有意に防禦効果が認められ, 400r 照射では認められなかつた。
3. Cystamine, および HCT ともに培養 L 細胞系に対する X 線防禦作用は認められなかつた。

稿を終るに臨み, 終始ご懇篤なるご指導と御校閲を賜つた恩師大平昌彦教授, 橋本清教授に深甚の謝意を表します。また, 本研究中多大のご助言, ご援助をいただいた衛生学教室黒田健講師並びに衛生学教室員各位並びに産婦人科教室員各位, また L 細胞の分与にあずかつた妹尾佐知丸教授並びに妹尾病理学教室員各位, また X 線照射に際して多大のご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39年4月, 第34回日本衛生学会において発表した。)

参 考 文 献

- 1) Patt, H. M., Tyree, E. B., Straube, R. L. and Smith, D. E.: Cysteine protection against X-irradiation. Science, 110: 213, 1949.
- 2) Bacq, Z. M. and Herve, A.: Cyanure et rayons X. J. Physiol. (London), 41: 124, A, 1949.
- 3) Bacq, Z. M. and Herve, A.: Coenzyme A et radiations ionisantes. Arch. Intern. Physiol., 61: 434, 1953.
- 4) Doherty, D. G., Burnett, W. T., Jr. and Shapiro, B.: Chemical Protection against ionizing radiation. II. Mercaptoalkylamines and related compounds with protection activity. Radiation Research, 7: 13, 1957.
- 5) Shapiro, B., Doherty, D. G. and Burnett, W. T.: Chemical protection against ionizing radiation. III. Mercaptoalkylguanidines and related isothiuronium compounds with protective activity. Radiation Research, 7: 22, 1957.
- 6) Gray, J. L., Moulden, E. J., Tew, J. T. and Jensen, H.: Protective effect of pitressin and of epinephrine against total body X-irradiation. Proc. Soc. Exp. Biol. Med., 76: 384, 1953.
- 7) Gray, J. L., Conger, A. D., Ebert, M., Hornsey, S. and Scott, O. G. A.: The concentration of oxygen dissolved in tissues at the time of factor in radiation therapy. Brit. J. Radiol., 26: 638, 1953.
- 8) Gray, J. L., Tew, J. T. and Jensen, H.: Pro-

- tective effect of serotonin and of paraaminopropiophenone against lethal doses of X-radiation. *Proc. Soc. EXP. Biol. Med.* 80: 604, 1952.
- 9) Van Bekkum, D. W. and de Groot, J.: Observations on Chemical protection in vivo and in vitro. *Progress in Radiobiology* (Mitchell, J. S., Holmes, B. E. and Smith, C. L. ed.), Oliver and Boyd, London, 1956, P. 243.
 - 10) Eldjarn, L. and Pihl, A.: On the mode of action of X-ray protective agents. I. The fixation in vivo of cystamine and cysteamine to proteins. *J. Biol. Chem.*, 223: 341, 1956.
 - 11) Eldjarn, L. and Pihl, A.: On the mode of action of x-ray protective agents. II Interaction between biologically important thiols and disulfides. *J. Biol. Chem.*, 225: 499, 1957.
 - 12) Eldjarn, L., Pihl, A. and Shapiro, B.: Cystamine-Cysteamine: On the mechanism for the protective action against ionizing radiation. *Proceeding of the international conference on the peaceful uses of atomic energy. II. Biological effects of radiation*, United Nations, New York, 1956, P. 335.
 - 13) Koch, R. and Passalacqua, F.: Microautographic tests with labelled radiation-Protective compounds. *Proceeding of the second United Nations international Conference on the peaceful uses of Atomic energy. 22. Biological effects of radiation*. United Nations, Geneva, 1958, P. 175.
 - 14) 安東規雄 組織培養法による放射線障害の化学的防禦に関する研究. 第1編, 培養L細胞に対する Cysteine 及び 2-Mercapthylamine (MEA) のX線防禦効果. 岡山医学会雑誌
 - 15) J. X. Khym, R. Schapira & D. G. Doherty: Ion Exchange Studies of Transguanylation Reactions. I Rearrangement of S, 2-Aminoethylisourea to 2-Mercaptoethylguanidine and 2-Aminothiazoline *J. Am. Chem. Soc.* 79: 5663, 1957.
 - 16) Hagen, V. & Blumenfeld, G.: Über den Wirkungs-mechanismus um β -Aminoethylisourea Br HBr als Strahlenschutzmittel. *Z. Naturforschg.* 11b: 607, 1956.
 - 17) Doherty, D. G. and Burnett, W. T. Jr.: Protective effect of S. 2-Aminoethylisothiuronium Br. HBr and related compounds against X-radiation death in mice. *Proc. Soc. EXP. Biol. Med.*, 83: 312, 1955.
 - 18) Langendorff, H. and Koch, R.: β -Aminoethylisothiuronium als peroral wirksame Strahlenschutzsubstanz. *Naturwissenschaft.* 43: 524, 1956.
 - 19) Crough, B. G. and Overman, R. R. Whole body radiation protection in primates. *Fed. Proc.* 16: 27 (1957).
 - 20) Makovin, D. and Puck, T. T.: Single Cell techniques in the study of radioprotective action. *Radiat Res.* 9: 155 (1958) abst.
 - 21) O. Vos, L. Budke, A. J. Vergroesen: Protection of Tissue culture cells against ionizing radiation I. The effect of biological amines, disulphide compounds and thiols. *Int. J. Rad. Biol.* Vol. 5. No. 6. 543/557 (1962).
 - 22) Per Eker and Alexander Pihl: Studies on the growth-Inhibiting and Radio-Protective Effect of Cystamine, Cysteamine and AET on mammalian Cells in Tissue Culture. *Radiation Research* 21. 165/179 1964.
 - 23) Bacq, Z. M.: La cystamine protection par voie orale contre le rayonnement X. *Bull. Acad. Roy. mid. Belgique.* 18: 426, 1953.
 - 24) Alexander, P., Bacq, Z. M., Cousens, S. F. Fox, M., Herve, A.: and Lazar, J.: Mode of action of some substances which protect against the lethal effects of X-rays. *Radiation Research.* 2: 392, 1955.
 - 25) Bacq, Z. M. et Herve, A.: Nouvelles observations sur l'action radioprotectrice de la Cystamine administrée en ingestion. *C. R. Soc. Biol (Paris)* 149, 1509/1512 (1955).
 - 26) Langendorff, H., Koch, R. and Sauer, H.: Untersuchungen über einen biologischen Strahlenschutz. IV. Die Bedeutung Sulfhydryl-gruppentragender Verbindungen für den biologischen Strahlenschutz. *Strahlentherapie.* 93: 281, 1954.
 - 27) Rugh, R.: Relative value of cysteamine and Cystamine as radioprotective agents for fetal and adult mice. *Amer. J. Physiol.* 189: 31—

- 35 (1957)
- 28) Trabert-Vau Der Maesen, M.: Etude Comparative de la Croissance et de la mitose dans des Cultures irradiees avec ou sans traitement prealable a la Cystamine. C. R. Soc. Biol. (Paris) 151. 1924 (1957).
- 29) Booz, G.: Influence de la cysteamine et de la cystamine sur la rezenération de la rate irradiee in vitro. C. R. Soc. Biol. (Paris) 151, 628 (1957).
- 30) Oftedal, P., Oftebro, R. and Eker, R.: Radioprotective properties of Cystamine, Cysteamine and Cysteine when tested with chick fibroblasts in vitro. Nature (London) 181, 344 (1958).
- 31) Oftedal, R., Oftebro, R. and Eker, R.: The radioprotective properties of Cysteine-Hcl, Cysteamine-Hcl, and Cysteamine-2Hcl when tested on chick fibroblasts in vitro. Saettrykk 25th Annivers Publ. from the Norwegian Radium Hospital 225, 1958.
- 32) 大平昌彦, 望月義夫, 黒田 健, 田村年行, 本並一二三. 組織培養法による放射線障害に対する化学的防禦剤の効果の研究. 第3報 X線に対する Cysteamine, Cystamine 及び Pantothenic acid の防禦剤効果の検討. 医学と生物学第61巻第3号昭和36年
- 33) Braun, W., Stille, G. and Wolf, V.: Oraler und parenteraler Strahlenschutz durch Thiolaktone. Arzneimittelforsch., 7: 753/754, 1957.
- 34) Braun, W., Kirnberger, E. J., Stille, G. und Wolf, V.: Vergleich einiger Sulfhydrylverbindungen im Strahlenschutz nach Wirkungsgrad und Zeitabhanzigkeit. Strahlentherapie. 108, 262 (1959)
- 35) Langendorff, M. and Koch, R.: Untersuchungenuber einen biologischen Strahlenschutz. XXIII. Homocysteinethiolaction als Strahlenschutz. 105: 451, 1958.
- 36) Bacq, Z. M. and Herve, A.: Protection of mice against alethal dose of X-rays by cyanide, azote and malononitrile. Brit. J. Radiol., 24: 617, 1951.
- 37) Bacq, Z. M., Herve, A., Lecomte, J., Fischer, P. and Blauier, J.: Protection contre le rayonnement X-par la beta mercaptaithylamne. Arch. intern. physiol., 59: 442, 1951.
- 38) 大平昌彦, 望月義夫, 黒田 健, 田村年行, 本並一二三. 組織培養法による放射線障害に対する化学的防禦剤の効果の研究. 第1報 Cysteine の放射線防禦効果の検討 医学と生物学. 61: 24, 1961.
- 39) Z. M. Bacq: Fundamentals of Radiobiology. Pergamon Press Oxford. London. New York. Paris. 1961.
- 40) Bacq, Z. M. and Herve, A.: Cyanure et dose lithal de rayon X. Compt. rend. Soc. Biol., 143: 881, 1949.

Studies on Chemical Protection against Radiation Injuries in
Inoculated L-strain Cells in vitro.

11. Protective Effects of s-2-Aminoethylisothiuronium-Br. HBr
(AET), Cystamine and Homocysteinethiolactone (HCT) in
Inoculated L-strain Cells against X-irradiation

By

Norio Ando

Okayama University Postgraduate School of Medicine

The protective effects of AET, Cystamine and HCT against irradiation were studied, comparing the cell population of the treated groups with that of the irradiated control groups on 2 days and 4 days after 400 r or 800 r irradiation. The results were as follows.

1) The protective effect of 10^{-4} M AET was observed significantly in both 800 r and 400 r irradiated groups.

2) The protective effect of 10^{-3} M AET was observed on 2 days and 4 days after irradiation.

3) The protective effects were not observed in Cystamine and HCT treated groups.
