The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	ヌクレオシド関連物質のマウス腫瘍局所照射及び全身照射に対する併用効果
Author(s)	寒川, 光治; 田中, 敬正
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1989, 49(10), p. 1298-1303
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/16540
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

日本医放会誌：49（10），1298—1303，1989（平1）

ヌクレオシド関連物質のマウス腫瘍局所照射及び全身照射に対する併用効果

関西医科大学放射線科学教室
寒川光治　田中敬正

（昭和63年12月5日受付）
（平成元年6月16日最終原稿受付）

The Modification of Radiation Effect by Nucleoside Related Compounds on a Murine Tumor Given with Local Radiotherapy and on Survival Following Whole Body Irradiation

Mitsuharu Sougawa and Yoshimasa Tanaka
Department of Radiology, Kansai Medical University

Research Code No. : 407

Key Words : Radiosensitization, Murine tumor, TCD50, Whole body irradiation

We have evaluated the effect of nucleoside related compounds on a murine tumor given with local radiotherapy and on the survival rate following whole body irradiation. C3H/He mouse transplanted FM3A tumor and ddY mice were used.

The enhancement ratio (ER) for the tumor treated by radiation and nucleoside related compounds was 1.02—1.67. For the normal tissue, Ara-A and BVAU given with radiation had no effect on the survival rate. In the combination of 50—800 mg/kg of ACV and whole body irradiation, the 50% survival day after 7 Gy was shorter than that of radiation alone. When 25—400 mg/kg of 3′-dG was given with radiation, the 50% survival day was longer. When combined with radiation, LD50/30 for ACV and 3′-dG were 3.9 and 6.3 Gy, respectively. ACV showed radiosensitizing effect with Dose modifying factor (DMF) at 1.1, on the other hand, 3′-dG showed radioprotective effect with DMF at 1.47.

Our results suggested that some nucleoside analogues might be useful as radiosensitizer.

1. はじめに

我々は以前より薬剤，特にヌクレオシド関連物質の放射線増感効果についてマウス実験腫瘍系を用いて検討してきた[1)2)]．その中で数種の薬剤に放射線抗腫瘍効果の増強がみられた．しかしマウスの全身照射時にこれらの薬剤を併用した際，放射線単独に比べて早期より死亡が見られた．このことは正常組織に対しても放射線障害を増強させる可能性が示唆された[2)]．

今回の実験でこれらヌクレオシド関連物質の正常組織の放射線障害の増強の有無について骨髄死を指標にし，各薬剤の投与量による放射線の効果の修飾，LD 50/30法によりDose Modifing Factor（DMF）の算出を行いさらに詳細に調べた．そして抗腫瘍効果についてもTCD 50法でEnhancement Ratio（ER）値を算出し治療効果比について調べ臨床応用の可能性について検討を行った．

2. 方法及び材料

8種のヌクレオシド関連物質を用いて放射線増感剤としての有用性について検討した．

IUdR : Iodo-deoxyuridine
Ara-A : Arabinofuranosyladenine
3′-dG : 3′-deoxyguanosine
ACV(Acyclovir) : 9-(2-hydroxyethoxymethyl) guan
BVAU : Bromovinyl-arabinofuranosyluracil
FIAU : Fluoroiodo-arabinofuranosyluracil
FIAC : Fluoroiodo-arabinofuranosylcytosine
FMAU : Fluoromethyl-arabinofuranosyluracil

IUdR は住友製薬, Ara-A は持田製薬, 3′-dG は山之内製薬, ACV は日本ウエルカム社, BVAU はヤマサ醤油, FIAU, FIAC, FMAU は Memorial Sloan-kettering Cancer Center (USA) より各々提供を受けた. 各薬剤は生理食塩水に溶解し濃度を調整し, 0.1～0.5cc を照射直前にマウスの腹腔内に投与した.

実験動物として, 雌 7 ～ 8 週齢の C3H/He マウス及び Jbc : ddY マウス(ケアリー, 大阪)を用いた. 腫瘍は C3H マウスに移植可能なマウス乳癌 FM3A を用いた.

照射線源として^{60}Co-γ 線(80cGy/min, FSD 80 cm)を, 腫瘍局所の照射と全身照射時に用いた. 腫瘍局所照射では無麻酔のマウスをアクリル板に固定し, 2×2cm^{2}の照射野で照射した. 照射に際しビルドアップの目的で厚さ5mm のアクリル板を腫瘍上部に密着させ吸収線量の補正を行い上方より照射した. 全身照射では20×20×4cm^{3}のアクリル製の箱を用い, 10匹のマウスをこの箱に入れて照射した.

FM3A 細胞の 1 ×10^{6}個を C3H マウスの大腿皮下に移植し, 腫瘍径が約1cm に達した時に実験に用いた. 腫瘍に放射線照射を行った後, 週に 1 度観察し最終的に照射後90日で腫瘍の有無を調べ TCD50で評価した. 又これら薬剤単独の制癌効果について, 腹腔内 1 回投与, 連日 3 回投与し, 腫瘍 3 方向の径を 3 日/週の割合で測定し Tumor Growth Time で評価した. 薬剤併用による正常組織の放射線障害の増強については骨髄死を指標にし, ddY マウスを7Gy 全身照射しその後の生存率の変化を調べた. 薬剤併用時に放射線増感効果がみられれば, 放射線単独の時よりも早期に生存率の低下がみられ, 防護効果の際には死亡開始が遅れると考えられる[2]. 薬剤に放射線増感効果がみられた場合, 7Gy 単独照射時50%のマウスが死亡するまでの日数と放射線に薬剤を併用した時の50%のマウスが死亡するまでの日数との比を求めた. 防護効果がみられた場合その逆の比を求めた. 又3′-dG, ACV では3～8Gy の全身照射を行い, LD 50/30を観察し ER を算出した.

3. 結　果

今回用いた薬剤の TCD 50値, ER 値は以前報告しているが[2], Table 1 に示したようにさらに新しい結果が得られた. FM3A 腫瘍の放射線単独での TCD50値は46Gy であった. 放射線と IUdR 25 mg/kg の併用では ER は1.08であったが IUdR 50mg/kg の併用では ER は1.42と高い値を得た. Ara-A, 3′-dG 各々50mg/kg, ACV 10mg/kg の併用では ER は1.02, 1.23と低い値となったが, 投

Table 1　TCD 50 and ER for C3H/He mice transplanted with FM3A tumor. Twenty to 25 mice at each point

Administrated Dose (mg/kg)	Radiation only	IUdR		Ara-A		ACV		3′-dG	
		25	50	50	100	10	20	50	100
TCD 50 Gy	46.0	42.5	32.5	45.0	40.0	41.0	37.5	45.5	40.0
ER		1.08	1.42	1.02	1.15	1.12	1.23	1.02	1.15

(mg/kg)	BVAU 10	FIAC 10	FIAU 10	FMAU 10
TCD 50 Gy	35.0	43.0	27.5	38.5
ER	1.30	1.07	1.67	1.26

Table 2 The tumor growth time in C3H/He mice bearing FM3A tumors treated with nucleoside related compounds only. Each value represents the mean days for the tumors to reach the 2, 4 and 6 times of the original volume±SD. Eighteen to 22 mice at each point

Administrated Dose (mg/kg) / Days	no treatment	3′-dG		Ara-A		IUdR		FIAC		FIAU		FMAU	
		100mg/kg		100mg/kg		50mg/kg		20mg/kg	50mg/kg	20mg/kg	50mg/kg	20mg/kg	50mg/kg
		1ip	3ip	1ip	3ip	1ip	3ip	3ip	3ip	3ip	3ip	3ip	3ip
2 times	5.4±2.9	7.7±2.3	7.6±3.5	5.6±2.0	6.4±2.2	7.5±2.8	8.0±3.0	10.8±3.2	7.6±2.1	6.9±3.3	7.0±1.8	8.2±2.9	7.8±4.0
4 times	12.4±5.4	12.4±4.0	11.2±2.9	10.0±2.3	11.4±2.2	12.1±2.7	12.0±2.1	17.2±2.8	14.0±2.8	11.4±2.9	12.4±2.3	13.0±1.4	13.6±3.8
6 times	15.5±5.9	15.9±5.0	14.5±4.0	13.0±2.1	15.3±4.3	15.3±2.7	16.4±6.2	21.0±4.4	16.0±1.0	15.7±1.2	16.4±2.8	19.0±2.0	17.6±3.8

与量を100mg/kg, 20mg/kgと各々増量すれば1.15, 1.42と高いER値が得られた. BVAU, FIAC, FIAU, FMAU各々10mg/kgの併用では, ER値は各々1.3, 1.07, 1.67, 1.26であった. これら薬剤の今回使用した投与量では全てに1以上のERが得られ放射線抗腫瘍効果の増強がみられた.

Table 2では, 3′-dG, Ara-A各々100mg/kg, IUdR 50mg/kgの1回投与, 3回連日投与の, 又FIAC, FIAU, FMAUの各々20, 50mg/kgの連日3回投与でのFM3Aに対する抗腫瘍効果についてTumor Growth Timeで腫瘍容積が2倍, 4倍, 6倍に要する日数で無治療群と比べた. Table 2に示すように無治療群では腫瘍が2倍, 4倍, 6倍に要する日数は各々5.4(±2.9), 12.4(±5.4), 15.5(±5.9)日であった. 3′-dG, Ara-A各々の100mg/kg, IUdR 50mg/kgの1回, 3回単独投与ではこれらの日数は無治療群と比べ変わりなかった. FIAC 20mg/kgの3回投与で日数の延長が軽度みられたが, 50mg/kg 3回投与では無治療群と変わらない結果となった. FIAU, FMAUではこの投与法では無治療群と変わらなかった. 又, 放射線照射との併用で用いた投与量10mg/kgではBVAU, FIAC, FIAU, FMAU各々の薬剤に単独での抗癌効果はみられなかった(データーはしめさず).

Fig. 1は, ddYマウス7Gy全身照射後の生存率の変化を示す. 7Gy単独では照射後10日まで全例生存しているが, それ以後生存率は低下していき, 50%の生存率を示す日数は12日であった. ACV 100, 200mg/kgの各々と7Gyとの併用では, 放射線単独より早い時期から死亡が見られ50%の生存率を示す日も5～7日と短縮した.

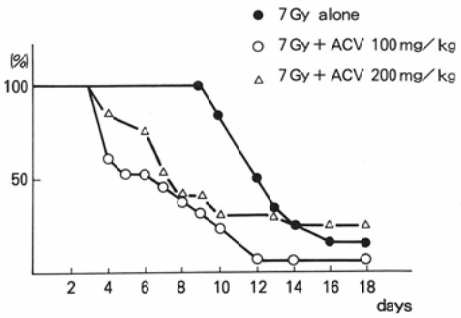

Fig. 1 Survival rate on ddY mice following whole body irradiation with or without ACV. Twenty mice in each group.

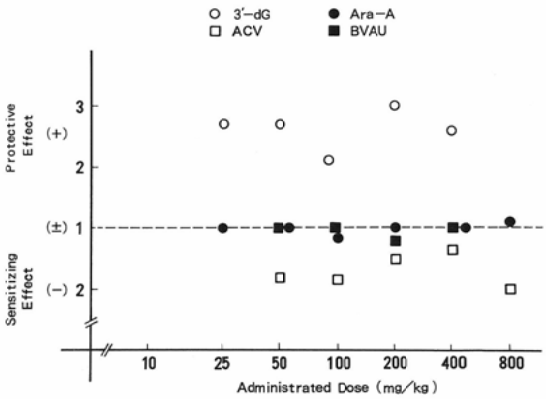

Fig. 2 The ratio of 50% survival days on ACV, Ara-A, 3′-dG and BVAU plotted as a function of administered dose. The mice were treated with 7 Gy whole body irradiation and drugs. Twenty mice at each point.

Fig. 2では, 3′-dG, Ara-A, ACV, BVAU各々のddYマウス7Gy全身照射併用時の放射線増感効果, 防護効果について, 照射後の50%の生存率

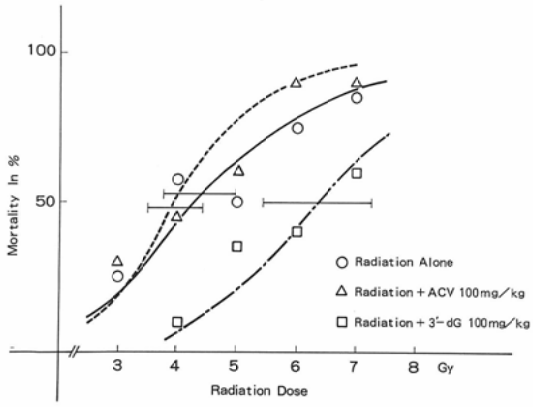

Fig. 3 The LD 50/30 values for radiation combined with or without 100mg/kg of ACV or 3′-dG. Probit analysis was used for calculation. Bar represents 95% confidence limits. Fifteen to eighteen mice at each point.

を示す日数を求め，縦軸に放射線単独の場合の日数との比を，横軸に各薬剤の投与量をとり調べた．Ara-A 25～400mg/kg の併用では100mg/kg 併用時に，BVAU 50～400mg/kg 併用時では200mg/kg 併用時に50%の生存率を示す日数が10日，9日と短縮し軽度増感効果を示したが，その他の投与量では放射線単独と比べてほとんど変わらなかった．又，ACV 50～800mg/kg の併用では，50%の生存率を示す日数は全ての投与量で短縮し9～6日となり，比の値も1.3～2.0と増感効果をしめした．一方，3′-dG 25～400mg/kg の併用では，生存日数の延長が見られ50%の生存率を示す日数も25～36日と延長し，比も2.2～3.0と防護効果を示した．

Fig. 3では，ddY マウス全身照射に ACV，3′-dG の各々100mg/kg を併用し30日後の死亡率を求め LD 50/30値を計算した．放射線単独での LD 50/30値は4.28(3.7～5.0)Gy であった．ACV 100 mg/kg の併用では LD50/30値は3.9 (3.4～4.5) Gy で，DMF は1.1と増感効果を，3′-dG 100mg/kg の併用では LD50/30値は6.3(5.4～7.3) Gy で DMF は1.47と防護効果を示した．

4. 考　　察

放射線増感剤として種々の薬剤が開発されている．Misonidazole などの低酸素細胞増感剤，BUdR などのフッ化ピリミジン系薬剤，又，最近は Ara-A や3′-dG などの PLDR 阻害剤も検討されている[3)4)]．

今回我々は種々のヌクレオシド関連物質を用い，non-Hypoxic cell sensitizer としての臨床応用への可能性について検討を行った．IUdR はフッ化ピリミジン系の薬剤でその増感効果については以前から報告されておりまた臨床応用も検討されている[5)～7)]．Ara-A，3′-dG は in-vitro において PLDR 阻害効果を示すが[8)9)]，in-vivo においても放射線の抗腫瘍効果を増強している[2)10)]．又 Ara-A は抗ウイルス剤として既に臨床で有用な薬剤である．ACV, BVAU, FIAC, FIAU, FMAU は新しく抗ウイルス剤として開発された薬剤であるが，副作用などのため現在臨床使用が可能なのは ACV のみである[11)～13)]．

これら8種の薬剤を放射線と併用してマウス腫瘍系を用い TCD 50法で調べた結果，全ての薬剤に放射線制癌効果の増強が見られた．これらの薬剤単独では制癌効果はほとんど見られずこの効果は増感効果と考えられる (Table 2)[14)]．この放射線増感効果の機序としては，ACV を始めとする抗ウイルス剤では DNA の修復阻害が考えられる[11)12)]．又 IUdR はフッ化ピリミジン系薬剤であり DNA に取り込まれ細胞の放射線感受性を変化させる[3)]．Ara-A, 3′-dG は PLDR 阻害剤であり癌細胞の放射線障害からの回復になんらかの影響を与えていると考えられるが，この腫瘍での PLDR 能は不明である．

しかし増感剤として臨床に応用する際，正常組織に対する障害の有無が問題となる．今回の実験では正常組織に対する障害の修復について，骨髄死を指標として調べた．評価法として，まずスクリーニングとして7Gy 全身照射後の50%生存率を示す日数について，薬剤併用群と放射線併用群とでこの日数の比を取り検討した．Fig. 2より，Ara-A, BVAU では投与量によっては軽度の増感効果もみられたが，これらの薬剤は骨髄死に対する放射線の効果をほとんど修飾しないと考えられ，TGF の増強が期待できる．ACV ではすべての投与量で放射線単独群に比べ早期より死亡が見

られ正常組織に対する放射線の効果を増強すると考えられる．一方，3′-dGでは放射線単独群に比べ死亡開始が遅れ，50%を示す日数も延長し防護効果を示すと考えられる．

臨床応用が可能なACVと，防護効果を示した3′-dGについてより詳細に調べるために全身照射後のLD 50/30について検討した．ACVではDMFは1.1であったが95%Confidence Limits (CL)より有意差はないと思われる．ACVでは腫瘍に対して比較的強い増感効果を持ち，正常組織に対しては弱い増感効果を持つ可能性が考えられる．ACVは抗ウイルス剤として既に臨床で使用されており，放射線増感剤として臨床応用が期待される．一方3′-dGは正常組織に対してDMFが1.47と高い値を示した．このことより3′-dGは腫瘍に対しては放射線増感効果を示し，一方骨髄死を指標とした正常組織では防護効果が見られ，これより高いTGFが期待できる．

3′-dGのこのような放射線効果の修飾はある種の薬剤でも見られることが報告されている．そのうちの一つはプロスタグランディン合成阻害剤であるインドメサシンである[15]．この薬剤は腫瘍に対しては放射線制癌効果の増強を示したが，正常組織として小腸細胞を用いた場合は軽度の放射線増感効果を，一方骨髄死を指標とした実験では放射線防護効果が見られた．この防護効果の機序として骨髄細胞の細胞分化と関係していると報告されている．又，Ara-Cもマウス小腸を用いた実験で，放射線増感効果，防護効果が観察されている[16][17]．この効果はAra-Cと放射線との併用時期の違いで変化し，細胞周期の変化による放射線抵抗性の獲得と報告されている．3′-dGも細胞周期や細胞分化を変え細胞の放射線感受性を変化させると考えられるが，明らかな機序については不明である．

今回の実験では，各薬剤は放射線照射直前に投与されたが，これは腫瘍に対する増感効果が最大となる時期を選んだためである[1]．しかし正常組織を含めてTGFを検討する場合，投与時期なども含めて検討を要すると考えられる．

我々の今回の実験でいくつかの薬剤にTGFを増大させる可能性のあることが明らかになった．これらの薬剤が臨床に応用されれば放射線治療の向上が期待できると考えられ，より一層の検討が必要と思われる．

本研究は厚生省がん研究助成金，田中班（59-11）によった．

文　献

1) Sougawa M, Akagi K, Murata T, et al: Enhancement of radiation effects by acyclovir. Int J Radiat Oncol Biol Phys 12: 1537—1540, 1986
2) 寒川光治，吉井義一，田中敬正：核酸類似物質の放射線増感効果．日本医放会誌，46: 1415—1420, 1986
3) Hall EJ: Radiosensitizers: Radiobiology for the radiologist, 3rd ed, 179—200, 1988, JB Lippincott Company, Philadelphia
4) Sugahara T, Nakatsugawa S, Nikaido O: PLD repair inhibitors as radiosensitizers. Radiat Phys Chem 24: 321—328, 1984
5) Erikson RL, Szybalski W: Molecular radiobiology of human cell lines. V. Comparative radiosensitizing properties of 5-halodeoxycytidines and 5-halodeoxyuridines. Radiat Res 20: 252—262, 1963
6) Kinsella TJ, Dobson PP, Mitchell JB: Interaction of iododeoxyuridine and its primary metabolite, iodouracil on radiation response. Int J Radiat Oncol Biol Phys 12: 1519—1522, 1986
7) Mitchell JB, Reesso A, Kinsella TJ, et al: The use of non-hypoxic cell sensitizers in radiobiology and radiotherapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 12: 1513—1518, 1986
8) Iliakis G: Effects of-arabinofuranosyladenine on the growth and repair of potentiallly lethal damage in Ehrlich ascites tumor cells. Radiat Res 83: 537—552, 1980
9) Nakatsugawa S, Kumar A, Sugahara T: Purine nucleoside analogues inhibit the repair of radiation-induced potentially lethal damage in mammalian cells in culture. Int J Radiat Biol 41: 343—346, 1982
10) UR, Nakatsugawa S, Takahashi M, et al: The chemical inhibition of PLDR (potentially lethal damage repair) in vitro and in vivo in cancer therapy. Int J Radiat Oncol Biol Phys 8: 457—460, 1982
11) De Clercq E: Selective antiherpes agents. Trends Pharmacol Sci 3: 492—495, 1982
12) Scott A: The search for viral penicillin. New

Scientist 10 : 642—645, 1983
13) Machida H, Sakata S : In vitro and in vivo antiviral activity of 1-β-D-arabinofuranosyl-E-(2-bromovinyl) uracil (BV-araU) and related compounds. Antiviral Res 4 : 135—141, 1984
14) 田中敬正，沢田　敏，村田貴史，他：化学療法と放射線治療．癌・放射線治療．癌の臨床別冊，220—230，1987，篠原出版
15) Furuta Y, Hunter N, Barkley T, et al : Increase in radioresponse of murine tumors by treatment with indomethacin. Cancer Res 48 : 3008—3013, 1988
16) Phelps T : Cytarabin (Ara-C) induced radioresistance of mouse jejunal stem cells following single or fractionated dose of radiation. Int J Radiat Oncol Biol Phys 6 : 1671—1677, 1980
17) Hanson WR, Boston DL : Cytosar-U(Ara-C) induced changes in mouse jejunal crypt epithelial kinetics and radiosensitivity to gamma rays and fast neutrons. Int J Radiat Oncol Biol Phys 9 : 515—521, 1983