



Title	新低酸素細胞増感剤RK-28の動物正常組織およびEhrlich腫瘍に対する放射線増感効果について
Author(s)	宮本, 裕二
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1985, 45(8), p. 1142-1151
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/19164">https://hdl.handle.net/11094/19164</a>
rights	
Note	

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

## 新低酸素細胞増感剤 RK-28の動物正常組織および Ehrlich 腫瘍に対する放射線増感効果について

京都府立医科大学放射線医学教室（主任：村上晃一教授）

宮 本 裕 二

（昭和60年3月8日受付）

（昭和60年4月22日最終原稿受付）

### Radiosensitizing Effect of New Hypoxic Cell Radiosensitizer, RK-28 on Experimental Animal Normal Tissue and Ehrlich Tumor

Yuji Miyamoto

Department of Radiology, Kyoto Prefectural University of Medicine

---

Research Code No. : 407

---

Key Words : Hypoxic cell Radiosensitizer, RK-28, Ehrlich  
tumor, Enhancement Ratio.

---

The toxicity and effects of a new hypoxic cell radiosensitizer, RK-28 were studied using bone marrow death of ICR mice and tumor control of Ehrlich ascites tumors. The LD50/30 of RK-28 was  $0.83 \pm 0.07$  mg/g. This agent had no radiosensitizing effect on bone marrow death; the LD50/30 value was 8.53 Gy for radiation alone, and 8.70 Gy for combined treatment of radiation with RK-28. The effects on the Ehrlich tumor cells were studied by the TCD50/90 method. No significant differences were found in the TCD50/90 value between aerobic tumor cells treated by radiation alone and those treated by radiation in combination with RK-28. If bone marrow death is an indicator of radiosensitivity of normal tissues, RK-28 showed no enhancement both on "normal tissues" and Ehrlich tumors.

However, RK-28 proved to radiosensitize on hypoxic tumor cells. The enhancement ratios of clamped tumors were 1.63, 1.97 and 2.34 at 0.075, 0.15 and 0.3 mg/g, respectively.

#### はじめに

腫瘍内に含まれる低酸素細胞は<sup>1)2)</sup>、高酸素細胞に比べて放射線感受性が $1/2 \sim 1/3$ と低く<sup>3)</sup>、低LET放射線に対して著しい抵抗性を示し放射線治療に際し根治を妨げる重要な原因の一つとなっている。現在までにこの低酸素細胞の放射線抵抗性を改善するため種々の方策が試みられている<sup>4)~8)</sup>。

すなわち、速中性子線、重イオン、 $\pi^-$ 中間子線等の高LET放射線の利用がある。また、X線、 $\gamma$ 線等の低LET放射線を利用する場合には、高圧

酸素タンク内での照射や、分割方法の改善、温熱療法、及び低酸素細胞放射線増感剤との併用等がある。その中の一つで最近注目されているものが低酸素細胞放射線増感剤と放射線との併用である。

低酸素細胞の放射線感受性を高める薬剤として、これまでに数多くの薬剤が試みられており、そして多くの薬剤が増感剤として報告されている。<sup>9)~11)</sup>しかし、いずれも毒性が強かったり、腫瘍内 Target part に血管系を通して到達し得なかったり、あるいは化学的薬理的に不安定な為等

で十分な効果を上げる事はできなかった。しかし Nitroimidazole 系の薬剤の開発により、これらの薬剤の放射線増感効果が注目され<sup>12)13)</sup>中でも 2-Nitroimidazole 系の Misonidazole は、in vitro 培養系細胞だけでなく、in vivo 動物固型腫瘍に対してもすぐれた放射線増感効果が認められた。この Misonidazole は高酸素分圧の正常組織の放射線感受性には影響を示さず、低酸素細胞の放射線感受性を選択的に高めることが報告されている<sup>14)~16)</sup>。

1975年以降各国で臨床実験が開始された。しかし、毒性（特に神経毒性）の為、充分量の薬剤投与ができず、又、分割照射との併用では十分な効果を上げるにいたっていない<sup>17)~21)</sup>。現在、通常行なわれている分割照射方法の改善が考えられる一方、より毒性の少ない放射線増感剤の開発が望まれている。

RK-28は日本で開発された新しい低酸素細胞増感剤である。今回我々は新低酸素細胞放射線増感剤 RK-28の実験動物における毒性、正常組織、及び Ehrlich 腹水腫瘍の in vivo での放射線増感効果について検討した。

#### 実験材料および方法

##### 薬剤

RK-28の化学構造式は Fig. 1 に示す通りである。化学式名は 1-(4'-Hydroxy-2'-Butenoxy) Methyl-2-Nitroimidazole で Misonidazole と同

じ 2-Nitroimidazole 系の薬剤である。RK-28は側鎖に糖鎖が着いており核酸の誘導體である。RK-28は坂口によって合成されたもので、実験には K. K. 科薬から提供を受けた物を使用した。薬剤は実験に必要な濃度になるように生理食塩水に溶解し調整した。

##### 実験動物—腫瘍系

実験に用いた動物はすべて ICR 系の 8 週齢の雄雌マウスである。これらの動物は静岡実験動物研究所 CO より 7 週齢で購入、一週間我々の空調化された動物飼育室 (23°C ± 2°C) で飼育後実験に用いた。

用いた腫瘍細胞は Ehrlich 腹水腫瘍細胞である。この腫瘍細胞は ICR 系マウスの生後 24 時間以内の子マウス腹腔内に一細胞を移植して株化した細胞である。これらの細胞を同系マウスに継代移植しているものを実験に用いた。

##### 放射線照射

一連の実験の放射線照射はすべて東芝製深部治療装置 KXC-18型を用いた。照射条件は 180kVp. 25mA で実験対象により照射距離、および Filter を変えて照射した。正常組織に対する放射線との併用効果の実験では 0.3mmCu + 0.5mmAl. Filter を使用し、線源—動物中心間距離 55cm, 半価層 0.7mmCu で、95.6rad/min. の線量率で全身照射した。

腫瘍に対する放射線との併用効果の実験では、2.0mmAl, Filter を用い、線源—腫瘍中心間距離 19cm, 半価層 8mmAl で、775.4rad/min. の線量率で腫瘍移植部位の周囲を含めて照射した。尚、必要線量の中点で裏返し、裏表から均等に照射した。

線量測定には Victoreen Condensor R-meter, Probe No. 621 を用いた。被照射マウスの中心点、腫瘍の中心点に相当する場所に Probe の中心を置き、照射野内の 2 ~ 4 点を各数回測定し、その測定値の平均の R 値を求め、それに気温、気圧の補正を行い更に吸収線量補正值 0.96 を乗じて rad 値とした。

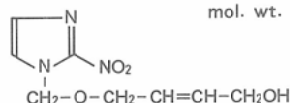
実験方法は各セッションに示す。

実験分析法は、毒性及び正常組織に対する放射線との併用効果では LD-50 法、腫瘍に対する放

#### Chemical Structures of RK-28

1-(4'-Hydroxy-2'-butenoxy) methyl-2-nitroimidazole

mol. wt. 213.02



Ref

Misonidazole

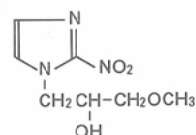


Fig. 1 Chemical structures of RK-28 and Misonidazole.

射線との併用効果では TCD-50法でおこなった。

### 実験結果

#### 1. 薬剤単独処理による30日間半数致死量 (LD 50/30値)

8週齢 ICR 系雄マウスを用いた。投与薬剤量は 0.15mg~1.5mg/g.b.w. の間に 9 段階を設定した。これらの薬剤をマウスの腹腔内に投与し投与後24時間までは時間単位で、以降30日までは1日1回同じ時刻に観察し、得られた結果から LD 50/30値を算出した。

Fig. 2に投与後の時間経過を伴う LD 50値の推移を示した。図に見られる様に LD 50値は12時間まで下降し、以降30日まで同じ値を示した。LD 50/30値は  $0.83 \pm 0.07 \text{ mg/g.b.w.}$  であった。

尚、投与後3時間での LD 50値は、1.12mg/g.b.w.、5時間では0.94mg/g.b.w.、12時間以降は0.83 mg/g.b.w. で30日間半数致死量と同一であった。

#### 2. 放射線併用による LD 50/5, 30値

8週齢の ICR 系雄マウスを用いた。薬剤はマウスの薬剤単独の LD50/30値の36%に当たる0.3 mg/g.b.w. を照射30分前にマウス腹腔内投与した。投与量では致死効果は認められなかった。放射線は400rad~2,500rad まで11段階に分けて照射した。照射はマウスが一匹ずつ入る個室が12個放射状に並んだプラスチック製のケースを用いこれにマウスを麻酔せずに入れ、このケースを照射中毎分15~20回転させながら全身照射を行った。照射は室温で行った。このケースの線源側のプラ

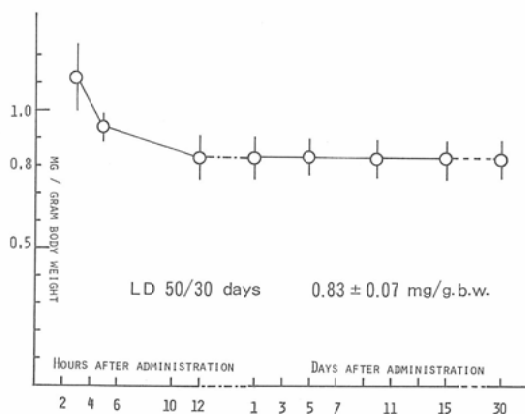


Fig. 2 Changes of the LD-50 values after intraperitoneal administration of RK-28 in ICR mouse.

Table 1 LD 50/5 and LD 50/30 values for ICR mouse after irradiation combined with or without RK-28, 0.3mg/g.

RK-28 0.3mg/g. b.w.	LD-50/5 (S.D.) rad	LD-50/30 (S.D.) rad
-	1292.6 (1333.5-1246.7)	870.6 (901.3-839.9)
+	1385.7 (1446.7-1324.7)	853.1 (931.5-774.7)

スタッフの厚さは3mmである。

照射後毎日一定時間にマウスの死亡をチェックし、LD50/5値及びLD50/30値を算出した。Table 1に得られた結果を示した。すなわち腸管死を反映するLD50/5値は放射線単独群では1,292.6rad、薬剤との併用群では1,385.7rad、骨髄死を反映すると考えられているLD 50/30値はそれぞれ870.6 rad, 853.1radで両者共に有意差は認められない。一部の組織を除き高酸素細胞で構成されている正常組織に対してはRK-28は放射線効果を修飾していないことが判明した。

#### 3. 移植後48時間の Ehrlich 腹水腫瘍に対する放射線増感効果

実験はICR系8週齢の雌マウスを用いた。実験に用いた腫瘍細胞は、継代移植している腫瘍細胞の一定数を同系雌マウスの腹腔内に移植し移植後3日目の対数増殖期の細胞である。これらの細胞を採取し、0.05%のTrypan blue液により生細胞をHemocytometerで計数しその生細胞の一定数( $5 \times 10^5$ )をマウス右大腿部皮下に移植し、48時間後の腫瘍を実験に使用した。照射時の腫瘍の大きさは、皮膚の上からノギスで計測すると直径約1mmであった。この固型腫瘍を使った田中らの実験で腫瘍の大部分は高酸素細胞で構成されていると考えられると報告している<sup>15)</sup>。

実験は、Fig. 3に示す様に六つの実験群を設定して行った。すなわち放射線非照射群と照射群に分け、非照射群において、薬剤投与群と非投与群の二群に分け、放射線照射群ではAerobic及び、Hypoxic条件下の二群に分け、さらにそれぞれの条件下の中で薬剤投与群、非投与群に分けた。

Hypoxicな条件は、放射線照射5分前にマウス右大腿根部を金具で圧迫し血流を止めることにより設定した。この方法によるHypoxiaの達成は

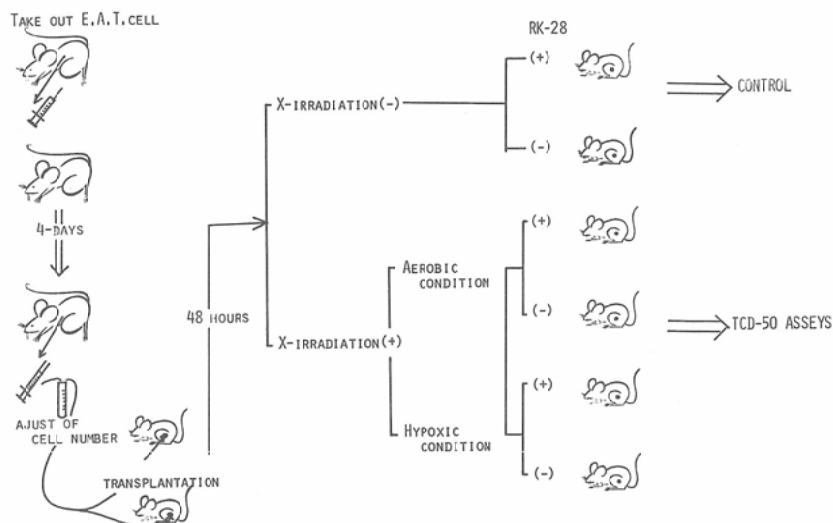


Fig. 3 Scheme of experimental procedure.

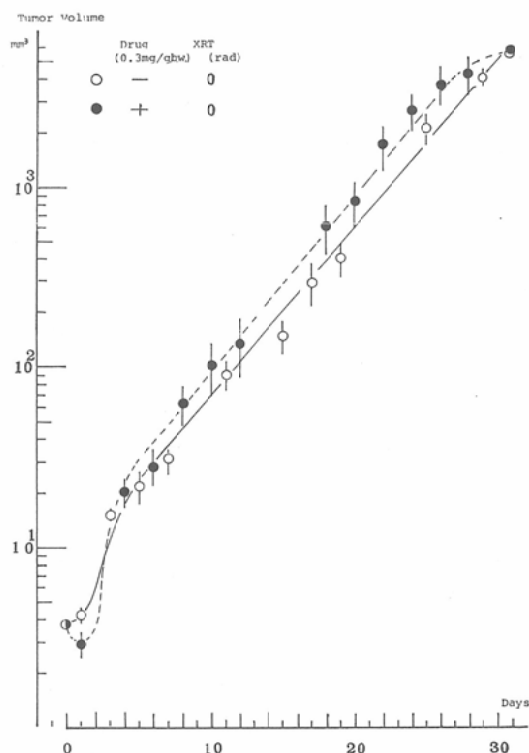


Fig. 4 The effect of RK-28 (0.3mg/g) on the growth curve for ICR mouse-Ehrlich tumor. This Ehrlich tumor was inoculated subcutaneously on the right thigh 48 hours before irradiation.

田中, 小野らの実験によって確かめられている<sup>15)22)</sup>。

薬剤濃度は0.3mg, 0.15mg, 0.075mg/g.b.w. の三段階の濃度で実験を行った。薬剤は放射線照射30分前にマウス腹腔内に投与した。腫瘍に対する放射線照射に際してはPentobarbital sodiumにて麻酔をした。照射後30日までは毎日、それ以降は一定期間毎にノギスで腫瘍直径を計測し腫瘍体積を求めた。腫瘍体積Vは縦, 横, 高さの三方向の腫瘍直径を各々a, b, cとして $V = a \cdot b \cdot c \cdot \pi / 6$ の式で求めた。

(1) 薬剤単独投与の腫瘍に対する効果

RK-28 0.3mg/g.b.w. 投与群と非投与群のTumor Growth curveをFig. 4に示す。両者に差は認められない。薬剤単独ではAerobicな条件下の腫瘍に対しては作用を示さない事がわかる。

(2) Aerobic tumor への放射線増感効果

RK-28の0.3mg/g.b.w. を投与し, 30分後にAerobic条件下で放射線照射した群および放射線照射単独群のTumor Growth curveを示した(Fig. 5) 両者に差は認められない。

Table 2にRK-28, 0.3mg/g.b.w. および0.15mg/g.b.w. 投与群のTCD50/90値, すなわち照射後90日目で50%の腫瘍を局所的にコントロールするのに必要な線量を示した。Aerobicな条件下で

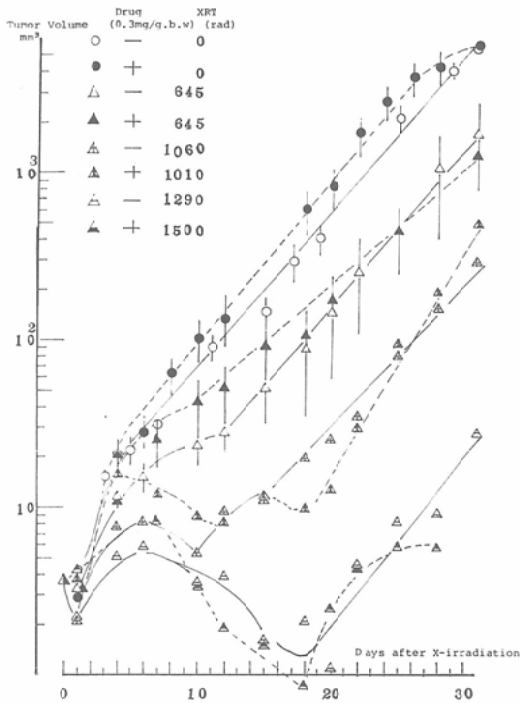


Fig. 5 Tumor growth curves for ICR mouse-Ehrlich tumor after irradiation combined with or without RK-28, 0.3mg/g. under aerobic condition.

Table 2 TCD 50/90 for ICR mouse-Ehrlich tumor after irradiation combined with or without RK-28, 0.3mg and 0.15mg/g. under aerobic or hypoxic condition.

Condition	RK-28 (mg/g.b.w.)	TCD-50/90 Rad (S.D.)	Enhancement Ratio
AIR	0.3	- 1109.1 (1367.0~911.5)	0.95
	+	1160.8 (1352.9~969.0)	
Hypoxic	0.3	- 2966.6 (3777.5~2155.7)	2.34
	+	1268.3 (1476.4~1058.2)	
AIR	0.15	- 1043.2 (1251.8~834.6)	1.02
	+	1617.9 (1132.2~903.6)	
Hypoxic	0.15	- 2647.0 (3023.7~2270.3)	1.97
	+	1344.3 (1473.2~1215.4)	

の TCD 50/90 値は、薬剤投与群(0.3mg/g.b.w. 投与時)で1.161rad, 非投与群で1,109radであり、これらの間にはほとんど差異は認められない。Aerobic 条件下での Enhancement ratio は0.95 (0.3mg/g.b.w. 投与時) 1.02 (0.15mg/g.b.w. 投与時) という結果を得た。RK-28 は Aerobic な条件下で照射された腫瘍に対しても放射線増感効果

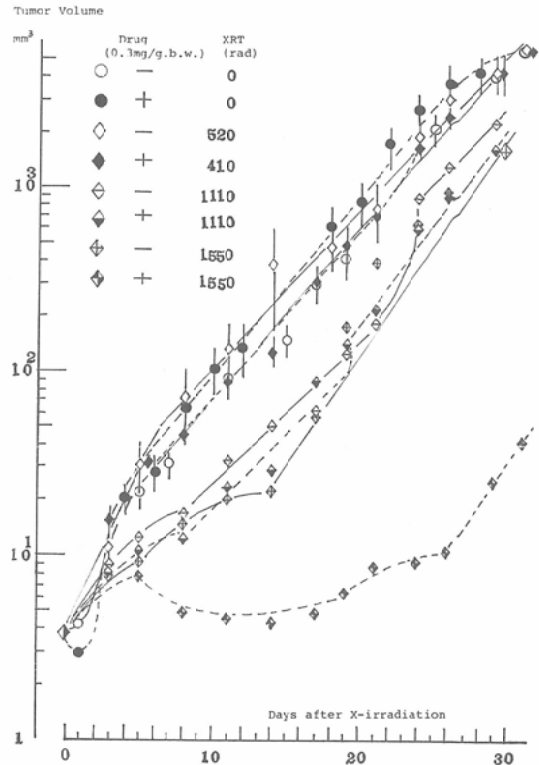


Fig. 6 Tumor growth curves for ICR mouse-Ehrlich tumor after irradiation combined with or without RK-28, 0.3mg/g. under hypoxic condition.

を示さない事が解る。

(3) Hypoxic tumor に対する放射線増感効果

Fig. 6 に RK-28 を 0.3 mg / g.b.w. 投与し Hypoxic 条件下で照射した群と放射線単独照射群の Tumor Growth curve を示した。同様に 0.15mg/g.b.w. 投与後を Fig. 7 に、0.075mg/g.b.w. 投与群を Fig. 8 に示した。

いずれの濃度の場合でも、薬剤投与群が非投与群に比して照射線量1,550rad 近辺で明らかな Tumor growth delay が認められる。

Table 2 に 0.3mg/g.b.w., 0.15mg/g.b.w. 投与時のまた Table 3 に 0.075mg/g.b.w. 投与時の TCD 50/90 値を示した。Hypoxic 条件下での Enhancement Ratio は 0.3mg/g.b.w. 投与時では 2.34, 0.15 mg/g.b.w. 投与時では 1.97, 0.075mg/g.b.w. 投与時において 1.63 という結果を得た。RK-28 は Hypoxic Tumor cell に対しては著明な放射線増感効果を

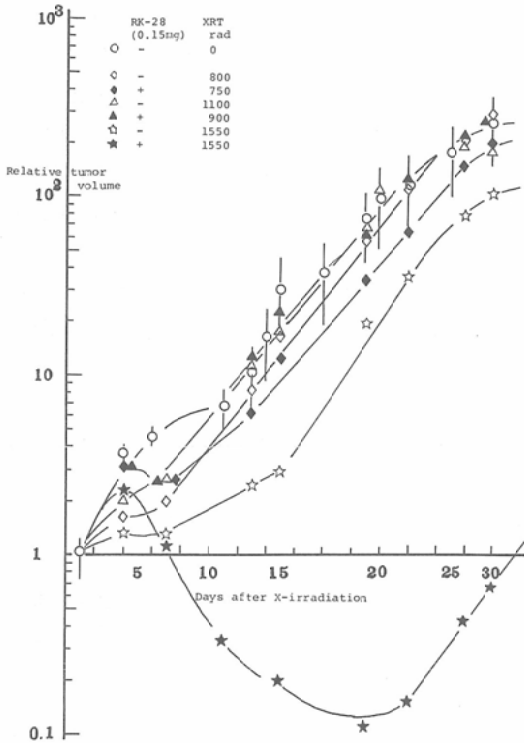


Fig. 7 Relative tumor growth curves for ICR mouse-Ehrlich tumor after irradiation combined with or without RK-28, 0.15mg/g under hypoxic condition.

Table 3 TCD 50/90 for ICR mouse-Ehrlich tumor after irradiation combined with or without 0.075 mg/g. RK-28 under aerobic or hypoxic condition.

	RK-28 0.075mg/g.b.w.	TCD-50/90 (rad)	Enhancement Ratio
AIR	-	1352.1 ( 873.0-1831.2)	
HYPOXIA	-	2651.6 (2413.2-2890.0)	1.63
	+	1631.2 (1444.7-1817.7)	

有する事が明らかになった。また薬剤投与量が多い程高い Enhancement Ratio が得られており、薬剤投与量依存性がしめされた。

論 議

低酸素細胞増感剤に限らず、薬剤を放射線療法と併用するとき、正常組織に対する反応と腫瘍に対する効果の比、いわゆる治療効果比について常に考えなければならない。つまり腫瘍細胞の放射線感受性を正常組織よりも有意に高める必要がある。

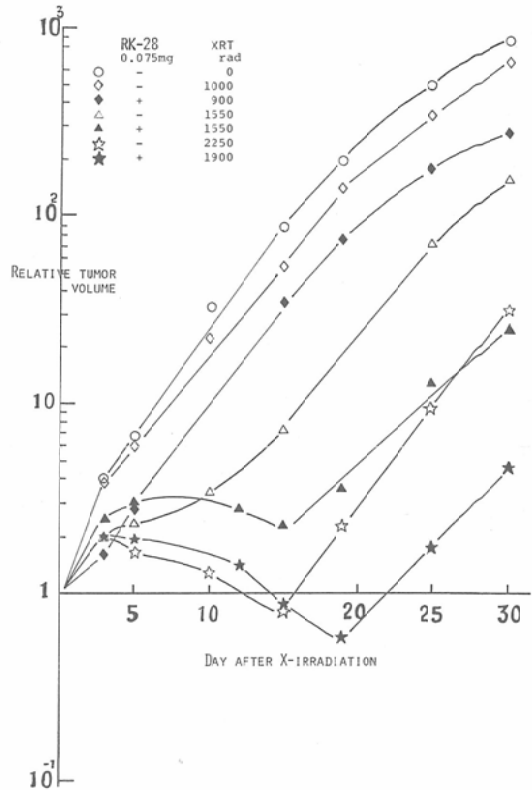


Fig. 8 Relative tumor growth curves for ICR mouse-Ehrlich tumor after irradiation combined with or without RK-28, 0.075mg/g. under hypoxic condition.

低酸素細胞増感剤は低酸素細胞が一般には腫瘍内のみ存在すると考えられるので、正常組織の放射線感受性を高めることなく腫瘍細胞のみを選択的に増感する。その作用機序は電子親和性の高い物質としての酸素類似(Oxygen mimic)作用によるものと考えられている<sup>12)21)</sup>。酸素効果の正確なメカニズムはまだ十分に理解されていないが、ほぼ意見の一致が見られている点は以下の通りである。すなわち生体に放射線が吸収されると高速の電子が発生し、これが生体を通る時イオン対が作られこれから遊離基が作られる。化学結合を切断し、生物学的障害の発現の一連の反応を始めさせるのはこれら遊離基であるが、その寿命は $10^{-5}$  sec. と非常に短い。酸素はこの遊離基と反応し、不可逆的な有機過酸化物を作り物質の化学構造を変化させていく。酸素が存在しない時この反応は

起こらず電離された分子の多くはそれ自身で電離を修復し正常機能を回復すると考えられている<sup>23)</sup>。しかし酸素は腫瘍内では毛細管より組織に拡散するさい速やかに代謝され毛細管より150  $\mu\text{m}$ ~200  $\mu\text{m}$ 離れた細胞内の酸素分圧はほぼ0となってしまう<sup>24)</sup>。ここに電子親和性が高くなおかつ代謝が遅く毛細管より離れた低酸素細胞まで有効な濃度で到達することのできる低酸素細胞増感剤の有用性がある。低酸素細胞増感剤としての必要な条件の一つに正常組織の放射線感受性を高めないことがある。RK-28の正常組織に対する放射線との併用効果をマウス LD50値を指標として検討した。Table 1に示すように放射線単独群とRK-28併用群とではLD50/30値に差は認められない。またマウスの皮膚反応を指標として正常組織に対する放射線との併用効果を見た場合にも放射線単独群と併用群との間に差は認められないとされている<sup>24)</sup>。

これらのことよりRK-28は正常組織の放射線感受性を増感させないことが明らかとなった。Ehrlich 腹水腫瘍細胞移植後48時間の固形腫瘍に対する増感効果の検討結果はTable 2に示す通り、Aerobicな条件下では放射線照射単独群とRK-28併用群との間にTCD 50/90値の差は認められず、またRK-28の投与濃度による差も認められない。すなわち、Enhancement ratioは0.3mg/g.b.w. 投与時0.95, 0.15mg/g.b.w. 投与時1.02と増感効果を示していない。

RK-28は正常組織であれ腫瘍細胞であれ高酸素細胞の放射線感受性に变化を及ぼさないことが明らかとなった。

低酸素細胞増感剤として低酸素細胞に対して増感効果が当然必要である。またより高い増感効果比が得られることが望ましい。

RK-28の低酸素細胞に対する増感効果の検討は同じEhrlich 腹水腫瘍を使って行った。Table 2, 3に示す様にHypoxic条件下で放射線単独群とRK-28併用群をTCD 50/90値を用い比較するとEnhancement ratioは0.3mg/g.b.w. 投与時2.34と高い放射線増感効果を示した。この時の酸素効果比(OER)は2.6でありRK-28の低酸素細胞に対

する増感効果はOER値に匹敵する高い値を示している。また0.15mg/g.b.w. 投与時は1.97, 0.075 mg/g.b.w. 投与時は、1.63の Enhancement ratioを示し、明らかに投与濃度依存性が認められた。また、0.075mg/g.b.w. という薬剤単独のLD 50/30値の9%という低濃度で1.63という高い放射線増感効果比が得られたことは重要と考える。母里らは<sup>25)</sup> HeLa S3細胞およびチャイニーズ ハムスターV79細胞でのin vitroでの実験で、RK-28は両細胞系に対してAerobicな細胞にはまったく放射線増感効果はなく、Hypoxicな細胞に対してのみ濃度に依存した放射線増感効果を示したと報告している。その増感効果比は、HeLa S3細胞で1mMの濃度で1.83, 5mMの濃度で2.54, またV79細胞で0.5mMの濃度で2.06, 1mMの濃度で2.52と言う結果を得ている。これらの実験結果は今回の我々のin vivoでの実験結果と同じく、RK-28は、低酸素細胞にのみ選択的に投与薬剤濃度に依存した高い放射線増感効果を有することを示している。また、母里ら<sup>25)</sup>は、RK-28は低酸素細胞に対して選択的に細胞毒性を有しており、同じ濃度では低酸素細胞に対してRK-28はMisonidazoleよりも細胞毒性が強い様だとのべている。

毒性は、ICRマウスを使った実験では、そのLD 50/30値は、 $0.83 \pm 0.07 \text{mg/g.b.w.}$ であった(Fig. 2)。Misonidazoleでの同じ毒性実験で田中ら<sup>15)</sup>はLD 50/30値は $2.1 \pm 0.3 \text{mg/g.b.w.}$ と報告しており、毒性はRK-28の方が高いと考えられる。

LD 50/30値が低いことは放射線増感剤として一つの問題点ではあるが以下二つの点と合わせて考えられなければならない。

第一点は放射線増感効果比と相関して考えなければならないということである。RK-28が低濃度でより高い増感効果が得られれば増感剤としては有用と思われる。

第二点は薬剤の体内分布および排泄の問題である。薬剤が早い時期に体内から排泄され蓄積されなければ充分量の反復投与も可能であり増感剤として有用と考えられる。

二つの薬剤の放射線増感効果を比較するとき、同一動物一腫瘍系での実験結果で比較することが



必要であろう。又、増感効果を単に薬剤投与量で比較するのではなく、Relative Toxicity, つまり薬剤単独のLD 50/30値との比でもって比較検討することが必要である。

ここでMisonidazoleとRK-28の放射線増感効果について比較を試みた。Misonidazoleに関しては同じ動物—腫瘍系での実験で、田中ら<sup>15)</sup>は1.0 mg/g.b.w. 投与時、つまりMisonidazoleのLD 50/30値の48%投与時Enhancement ratioは2.5であったと報告しておりそのデータを用いた。横軸にRelative Toxicityを対数で、縦軸にEnhancement Ratioをとり、Misonidazoleと今回の実験で得られたRK-28のデータを同じグラフ上に示してみた(Fig. 9)。これを見ると放射線増感効果はどちらが高いかは判断は困難であるが、今回の実験結果からはRK-28はMisonidazoleとほぼ同程度の増感を有していると考えられる。

次にRK-28の投与後の体内での分布ならびに排泄について検討した。これについてのデータは坂口らより得られたものである<sup>26)</sup>。

使用された実験動物はICR雄マウスであり、腫瘍はSarcoma-180を背中に移植し、0.8g~2.0gの重要になったものである。RK-28を0.5mg/g.b.w. 腹腔内投与を行い、経時的に各組織のRK-28濃度を測定した結果はFig. 10に示す通りである。血中濃度は投与後60分値で15分値の約6%に低下しているが腫瘍内濃度は120 $\mu$ g/gから50 $\mu$ g/gと

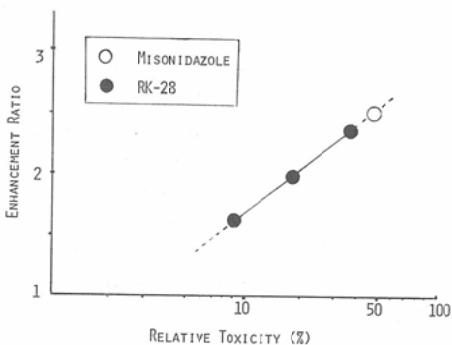


Fig. 9 Comparison of efficiency of the RK-28 with Misonidazole. For a given drug dose, the enhancement ratio achieved is plotted against the relative toxicity of the drug dose (expressed as a percentage of the LD-50/30).

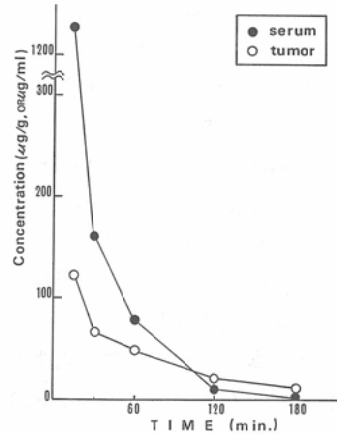


Fig. 10 Elimination curves of RK-28 from Plasma and Tumor. Distribution of RK-28 in ICR mouse bearing Sarcoma-180 as a function of time after intraperitoneal injection at dose level, 0.5mg/g.

投与後60分値は15分値の約42%になっており、低下速度は血中より腫瘍内の方が遅く、投与後60分値で比較すると腫瘍内濃度は血中濃度の約64%になっている。RK-28は腫瘍内からはゆっくりと排泄され、血中からは早い時期に尿として体外に排泄される様である。

Misonidazoleの血中濃度の経時的推移に関しては、Brown, Nebot, らの研究報告がある<sup>27)28)</sup>。Nebotらは、BALB/c雌マウス(体重16~20g)にMisonidazoleを0.5mg/g.b.w. 腹腔内投与し、投与後、経時的に血中濃度を測定し、投与後60分値は15分値の60%に低下したと報告している。使用マウスの違い(体重はほぼ同じ)等から正確に比較はできないが、RK-28の方がMisonidazoleよりもかなり早く血中濃度が下がり、体外に排泄されている様である。

薬剤の体内での半減期が短いことは、副作用の軽減につながるという利点を持つ一方、腫瘍内の薬剤濃度が十分に上がらないという欠点も考えられ、さらに検討が必要である。

またChapmanは、<sup>14</sup>CでLabelしたMisonidazoleを使った動物固定腫瘍やSpheroidでの実験で、Misonidazoleは選択的に低酸素細胞内に入り、結合し、代謝される。それゆえに、Misonidazoleは固型腫瘍内の低酸素細胞の存在を知る良

いMarkerになる」と報告している<sup>29)</sup>。RK-28は低酸素細胞に選択的に強い細胞毒性を示しており<sup>25)</sup> Misonidazoleと同様に低酸素細胞に選択的に結合している可能性は考えられるが、しかし、低酸素細胞に選択的に結合しているか否か、また低酸素細胞内での代謝についての実験はまだ行なわれておらず、今後検討が必要である。

RK-28は正常組織に対しては放射線増感効果を持たず、低酸素細胞に対してのみ高い放射線増感効果を示し、又薬剤単独で低酸素細胞に対して選択的に細胞毒性を有しており、低酸素細胞放射線増感剤としての基本的な持つべき条件を十分に満たしている。

しかし現在RK-28のin vivoでの実験は今回の我々のICR mouse-Ehrlich Tumorによるものが最初であり、今後他の腫瘍系による増感効果の検討が必要である。又、分割照射時の増感効果についても検討する必要があると考える。それにもまして、RK-28の生体に対する毒性は未だ解明されておらず(例えばMisonidazoleのもつ神経毒性)今後早急に解明されなければならない課題である。

### 結 語

新低酸素細胞放射線増感剤RK-28の毒性、正常組織に対する放射線増感効果、低酸素細胞に対する放射線増感効果についてICR-マウス-Ehrlich腫瘍細胞を用い実験を行い以下の結果を得た。

(1) RK-28の薬剤単独のLD50/30値は0.83±0.07mg/g.b.w.であった。

(3) RK-28は正常組織、高酸素腫瘍細胞に対する放射線増感効果を示さなかった。

(3) 低酸素細胞のみ選択的に放射線増感効果を高めた。又、投与剤濃度依存性が認められた。Enhancement Ratioは、0.3mg/g.b.w. 投与時2.34, 0.15mg/g.b.w. 投与時, 1.97, 0.075mg/g.b.w. 投与時, 1.63であった。

稿を終えるに当たり、御指導後校閲を賜りました恩師村上晃一教授に深甚なる謝意を捧げます。また、本研究に際して、絶えず御助言御指導御力をいただいた京都府立医科大学放射線医学教室講師田中紀元博士に深い感謝の意を表します。さらに、薬剤の提供と薬剤体内分布の実験デー

タを提供していただいたKK科薬、坂口正一博士に感謝し、そしてこの実験に際して協力いただいた放射線医学教室、医局員一同に感謝いたします。

この研究は、文部省科学研究費補助金がん特1、小野山班の一部資金の援助によることを付記する。

この論文の要は第43, 44回日本医学放射線学会総会にて発表した。

### 文 献

- 1) Thomlinson, R.H. and Gray, L.H.: The histological structure of some human lung cancer and possible implication for radiotherapy. *Brit. J. Cancer*, 9: 539-549, 1955
- 2) Kallman, R.F.: The phenomenon of reoxygenation and its implication for fractionated radiotherapy. *Radiology*, 105: 135-142, 1972
- 3) Gray, H.L.: Radiobiologic basis of oxygen as a modifying factor in radiation therapy. *Am. J. Roentgenol.*, 85: 803-815, 1961
- 4) 村上晃一: 特別発言: Time-dose relationship in Radiation Therapy of advanced cancer. *癌の臨床*, 23(7): 626-628, 1977
- 5) 村上晃一: 高LET治療の現状. *臨床ME*, Vol. 6, No.6, NOV, 1982
- 6) 津屋 旭: 日本における速中性子線治療のクルニカルトライアル. *癌の臨床*, 22(4): 1977
- 7) Glassburn, J.R. and Brady, L.W.: Hyperbaric oxygen in radiotherapy. *Cancer*, 39: 751-765, 1977
- 8) Yamashita, M.: Radiosensitizing Effect of Combined Radiotherapy, Hyperthermia and Misonidazole on C3H Mouse FM3A tumor. *Nippon Acta Radiologica*, 25, Sep. 1984
- 9) Adams, G.E. and Dewey, D.L.: Hydroxylated electrons and radiobiological sensitization: *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 12: 473-477, 1963
- 10) Adams, G.E.: Chemical sensitization of hypoxic cells. *Brit. Med. Bull.*, 29: 48-53, 1973
- 11) Tanaka, N.: Radiosensitivity of Ehrlich ascites tumor cells in different growth phases and its enhancement by iodoacetamide. *J. of Radat. Res.*, 14(3): 236-247, 1973
- 12) Adams, G.E., Frockhart, I.R., Smithen, C.E., Stratford, J.L.J., Wadman, P. and Watts, M.E.: Electron affinic sensitization VII. *Rad. Res.*, 67: 9-20, 1976
- 13) Ston, H.B. and Withers, H.R.: Tumor and normal tissue response to metronidazole and irradiation in mice. *Radiology*, 113: 441-444, 1974
- 14) 母里知之, 芝田千恵子, 大泉幸雄, 前沢 博, 宇

- 城信吾, 堀 均, 稲山誠一: Hypoxic Cell Sensitizer, in vitro. 癌の臨床, 27: 1447—1452, 1981
- 15) 田中紀元, 坂崎富夫, 長谷川隆, 岡部春海, 山下正人, 村上晃一, 竹内 博: 実験動物腫瘍に対する放射線と Misonidazole の併用効果. 癌の臨床, 27: 1453—1460, 1981
- 16) Hall E.J. and Roizin-Towle, L.: Hypoxic sensitizers, radiobiological studies at the cellular level. Radiology, 117: 453—457, 1975
- 17) Sheldon, P.W. and Fowler, J.F.: Radiosensitization by misonidazole of fractionated Xray in a murine tumor: Brit. J. Cancer 37, 111(Suppl.): 242—245, 1978
- 18) Hill, R.P. and Buksh, R.S.: The effect of misonidazole in combination with radiation dose fractionation. Brit. J. Cancer 37, 111(Suppl.): 255—258, 1978
- 19) Urtsun, P.C., Band, P., Chapman, J.D., Rabin, H.R., Wilson, A.F., Fryer, C.G.: Clinical Phase I study of the hypoxic cell radiosensitizer Ro-07-0582, and 2-nitroimidazole derivate. Radiology, 122: 801—804, 1977
- 20) 小野山靖人: Misonidasole の臨床治験補遺—文部省科研費がん特別研究 A, 小野山班, 昭和58年度研実報告書
- 21) 小野山靖人: Hypoxic cell sensitizer 放医研シンポジウムシリーズ. 癌の臨床学的治療, 00: 298—318, 1980
- 22) 小野公二, 高橋正治, 浜中大三郎, 平岡真寛, 西台武弘, 阿部光幸: ミホニダゾールと SR-2508 の実験動物腫瘍に対する放射線増感効果に関する研究, 日本医放会誌, 第43巻, 第2号, 370—376, 1985
- 23) Hall, E.J.著, 浦野宗保訳: 放射線科医のための放射線生物学, 77—87, 篠原出版, 1980
- 24) 田中紀元: personal Communication.
- 25) 母里知之: 低酸素細胞増感剤の実験的研究—文部省科研費がん特別研究1, 小里炭班昭和58年度研究報告書
- 26) 坂口正一: Personal Communication.
- 27) Brown, J.M., Yu, N.Y. and Workman, P.: Pharmacokinetic consideration in testing hypoxic cell radiosensitizer in mouse tumor: Brit. J. Cancer, 39: 310—320, 1978
- 28) Nebot, M.F., Labat, C., Teerrissol, M., Martin, B. and Oustrin, J.: Plasma concentrations and pharmacokinetics of misonidazole after intraperitoneal administration to the mouse: Europ of Drug Metabol. and pharmacokineti, 7(1): 17—20, 1982
- 29) Chapman, J.D.: The Detection and Measurement of Hypoxic Cell in Solid Tumors. Cancer, 54: 2441—2449, 1984