

核酸類似物質の放射線増感効果

関西医科大学放射線科学教室

寒川 光治 吉井 義一 田中 敬正

（昭和61年5月19日受付）

（昭和61年7月7日最終原稿受付）

Radiosensitization Effects of Nucleoside Analogues

Mitsuharu Sougawa, Giichi Yoshii and Yoshimasa Tanaka

Department of Radiology, Kansai Medical University

Research Code No. : 408

Key Words : Radiosensitization, nucleoside analogues, FM3A
mouse tumor, TCD-50

Various nucleoside analogues were investigated in vivo for their rediosensitization effects. The enhancement of anticancer effects when nucleoside analogues were combined with radiation treatment was examined by using C3H mice to which FM3A cells (mouse mammary carcinoma cells) were transplanted. The results were evaluated by the TCD-50 method to calculate the enhancement ratio (ER). The ER value for 3'-dG 100 mg/kg was 1.15; ACV 20 mg/kg was 1.23; BVAU 10 mg/kg was 1.30; FIAC 10 mg/kg was 1.07; FMAU 10 mg/kg was 1.26. To study the radiation damage to normal tissue treated with nucleoside analogues combined with radiation, ddY mice were irradiated with 7Gy whole body irradiation and the change in the survival rate was examined. The mice died sooner when treated with radiation combined with ACV 100 mg/kg, 200 mg/kg, BVAU 100 mg/kg, and Ara-A 100 mg/kg than when treated with radiation treatment alone.

Among the nucleoside analogues employed in this study, ACV has clinically been shown to have antiviral effects. If ACV is used as a radiosensitizer, we can expect an improvement in cancer therapy. However, in addition to the radiosensitization effects against tumors, we must also consider the radiation damage to normal tissue.

1. はじめに

放射線増感剤として種々の薬剤が報告されている。そのなかでも Bromodeoxyuridine (BUdR) は non-hypoxic cell sensitizer として基礎実験での効果が示され^{1)~3)}、臨床応用も行なわれた^{4)~6)}。しかし BUdR を生体内に投与した場合、早い代謝をうける⁷⁾⁸⁾。このため動脈内カテーテル留置による腫瘍局所への注入が必要となり、投与法の困難さや血栓塞栓症などの合併症がおこる⁴⁾⁵⁾。また BUdR は腫瘍局所だけでなく正常組織も強く増感効果を示し⁶⁾、臨床応用では有効性が示されていない。最近この薬剤の持続的経静脈投与が行な

われているが、骨髄抑制や skin rush などの副作用が報告されている⁹⁾¹⁰⁾。

このためわれわれは、副作用の少ない有効な放射線増感剤の開発を試みた。薬剤として BUdR と同様な多くの核酸類似物質を用い、マウス実験腫瘍系で検討し選抜を試みた。これら薬剤について、腫瘍に対する放射線増感効果、および正常組織に対する障害増強について調べ、臨床応用について検討した。

2. 方法および材料

① 薬剤

放射線増感剤として次の薬剤を用いた (Fig.

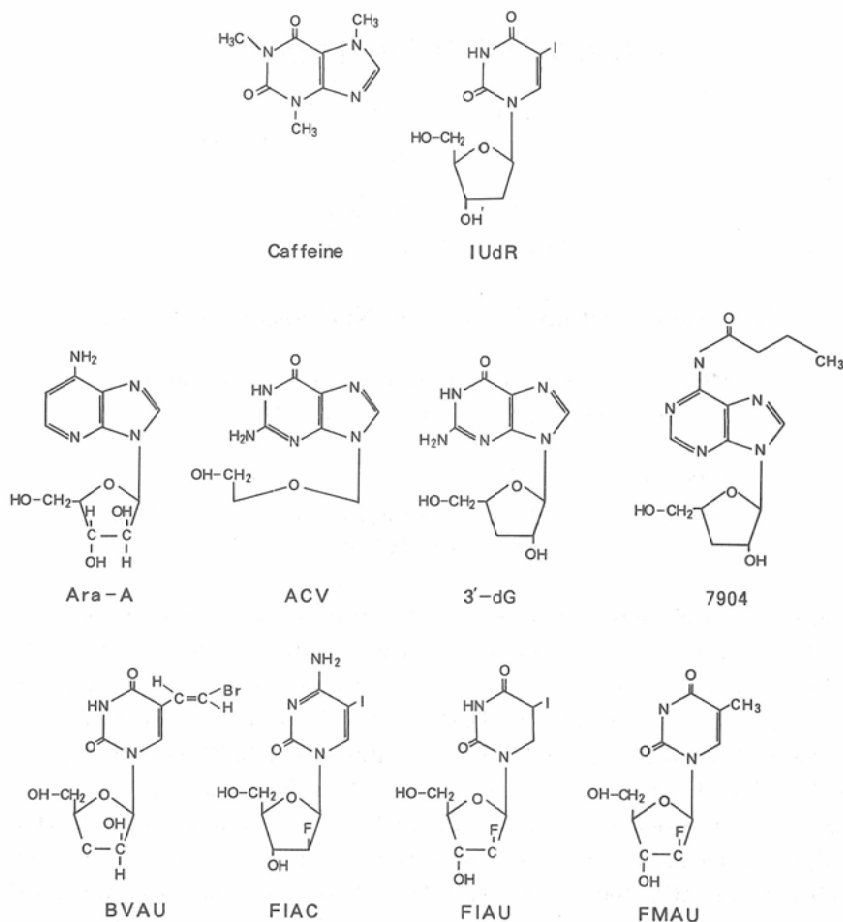


Fig. 1 Chemical structures of nucleoside analogues.

1).

Caffeine

IUdR: Iodo-deoxyuridine

Ara-A: Arabinofuranosyladenine

3'-dG: 3'-deoxyguanosine

7904: N⁶-butyryl-3'-deoxyadenosine

ACV (Acyclovir): 9-(2-hydroxyethoxymethyl) guanine

BVAU: Bromovinyl-arabinofuranonyluracil

FIAU: Fuluoriodo-arabinofuranosyluracil

FIAC: Fuluoriodo-arabinofuranosylcytosine

FMAU: Fuluoromethyl-arabinofuranosyluracil

Caffeine は半井化学薬品 (京都) より購入した。

IUdR は住友製薬, Ara-A は持田製薬, 3'-dG は山之内製薬, 7904, BVAU はヤマサ醤油, ACV は日本ウエルカム社, FIAU, FIAC, FMAU は Memorial Sloan-Kettering Cancer Center (USA) より提供をうけた。

② 実験腫瘍系

C3H マウスに移植可能な FM3A (マウス乳癌) を用いた。マウスはケアリー (大阪) より購入した。FM3A は三共製薬より提供をうけた。

メス, 7~8 週齢の C3H マウス大腿皮下に $1 \times 10^5 \sim 10^6$ 個の腫瘍細胞を移植し, 腫瘍径が約 1cm に達した時実験に使用した。

照射線源として ^{60}Co - γ 線 (80rad/min, FSD 80 cm) を用い, 無麻酔下で腫瘍局所に $2 \times 2 \text{ cm}^2$ の大きさで照射した。評価は growth delay 法, または

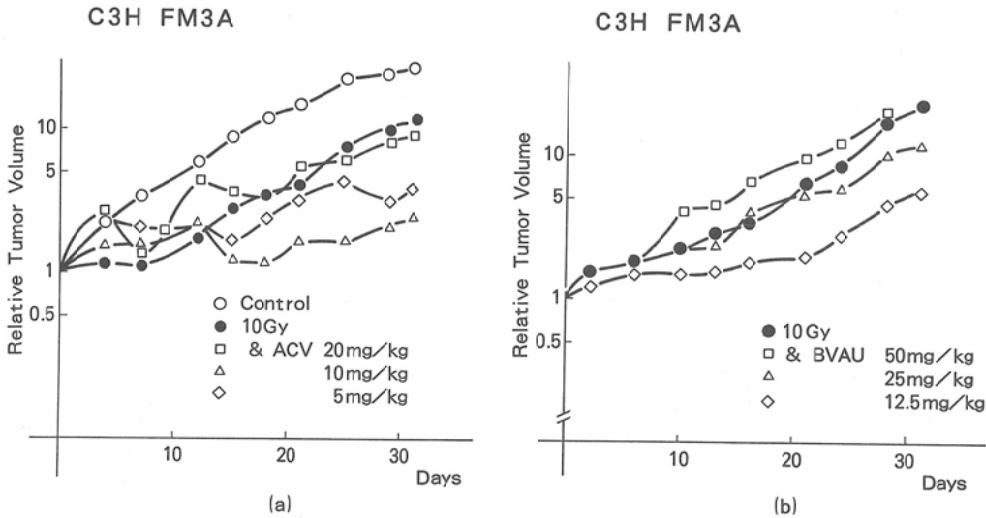


Fig. 2 The enhancement of radiation antitumor effects of ACV and BVAU. C3 H mice which were transplanted with FM3A cells were used. Each point denoted the average of ten animals. The mice were injected with ACV or BVAU intraperitoneally just before irradiation.

TCD-50法で観察した。

各薬剤は生理食塩水に溶解し濃度を調整し、照射直前に腹腔内に投与した。

③ 各薬剤のマウス全身照射に与える影響

放射線と各薬剤の併用時、正常組織に与える影響を考慮して、ddy マウス全身照射後の生存率の変化を調べた。

ddy マウスはケアリーより購入した。各薬剤を照射約10分前に ddY マウス(メス、7~8週齢、20~25g/body)の腹腔内に投与し、7 Gyの全身照射を行なった。

3. 結 果

① 各薬剤の放射線制癌効果増強

Fig. 2に ACV, BVAU の FM3A に対する放射線制癌効果増強を示す。評価は growth delay 法で行なった。各点は10匹の平均値である。10Gy 照射群と ACV 5, 10mg/kg 併用群、および BVAU 12.5mg/kg 併用群では、10Gy 単独に比べて制癌効果増強がみられた。

Fig. 3に Tumor cure rate を指標にした FM3A に対する ACV の放射線増感効果を示す。TCD-50で比較するとき、放射線単独では TCD-50は46 Gyであるのに対し、ACV 20mg/kg 併用のそれ

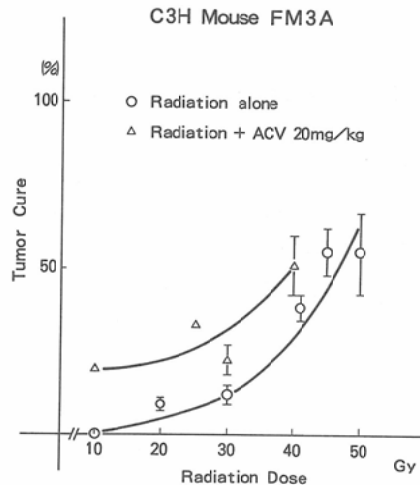


Fig. 3 The radiosensitization effects of ACV. TCD50 was used for evaluation. The bar represented the standard deviation.

では37.5Gyとなり、増感比(ER)は1.23である。

Table 1に、各薬剤の TCD-50および ER を示す。3'-dG 50mg/kg 併用時には ER が1.00となったのに対し、100mg/kg 併用時には1.15と増感効果がみられた。BVAU, FIAC, FMAU それぞれ10 mg/kg 併用時、ER は1.30, 1.07, 1.26と増感効果がみられた。Gaffeine 25mg/kg 併用時には TCD-

Table 1 The radiosensitization effects of nucleoside analogues. TCD-50 was used for evaluation. These drugs were injected intraperitoneally just before irradiation.

	Radiation alone	Caffeine 25mg/kg	3'-dG		ACV 20mg/kg	BVAU 10mg/kg	FIAC 10mg/kg	FMAU 10mg/kg
			50mg/kg	100mg/kg				
50% Gure Dose (Gy)	46	50	46	40	37.5	35	43	36.5
E.R.	1.00	<1.00	1.00	1.15	1.23	1.30	1.07	1.26

50は50Gy となり放射線増感効果はみられなかった。IUdR, Ara-A, 7904, FIAU の TCD-50, ER は算出していない。しかし FM3A に対して growth delay の検討では IUdR 50, 100mg/kg 併用時, FIAU 20mg/kg 併用時放射線増感効果がみられた。また ICR マウス Sarcoma-180を用いた growth delay での検討では Ara-A 100mg/kg 併用時に放射線制癌効果の増強がみられた。7904は Sarcoma-180に対して放射線制癌効果の増強がみられなかった。現在これらの薬剤の TCD-50, ER を算出中である。

② 各薬剤併用時のマウス全身照射に与える影響

ddY マウスに 7 Gy の全身照射を行ない、各薬剤の有無による生存数の変化を調べた (Fig. 4)。

1群10匹とし照射後経時的に生存数を観察した。

7Gy 単独では、照射後10日目より死亡しだし以後生存数が減少していき、50%の生存率を示す日は照射後12日目であった。しかし ACV 100, 200 mg/kg の併用では、4日目より死亡しだし50%の生存率を示す日はそれぞれ5日目、7日目であった。一方 BVAU 200mg/kg, Ara-A 100mg/kg, Caffeine 25mg/kg のそれぞれ併用では、それぞれ10日目、8日目、13日目であった。

4. 考 察

今回われわれは放射線増感剤として種々の核酸類似物質を用い、マウス実験腫瘍系で調べた。そのなかで、3'-dG, ACV, BVAU, FIAC, FMAU にそれぞれ放射線制癌効果の増強がみられた (Table 1)。3'-dG は100mg/kg 併用時1.15の ER が得られた。Uらは BALB/c マウス EMT-6を用い3'-dG 100mg/kg 併用で1.9の ER を報告している¹¹⁾。今

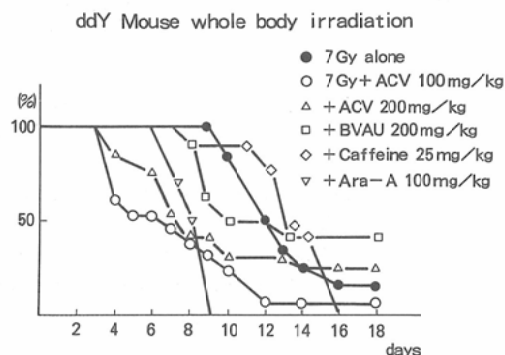


Fig. 4 The changes of survival rates of ddY mice irradiated with 7Gy whole body irradiation with and without drugs. These drugs were injected intraperitoneally ten minutes before irradiation. Each point denoted the average of ten animals.

回われわれの結果では、Uらの ER より低い値となったが、3'-dG の放射線制癌効果増強は認められると考えられた。一方 ACV をはじめとする他の薬剤では20mg/kg 以下の投与量で効果がみられた。これらの薬剤の大量投与では、ACV 100mg/kg, BVAU 200mg/kg 以上で急性毒性のため1週間以内に半数以上が死亡した。これら薬剤の LD 50は ICR マウスで ACV 405mg/kg¹²⁾ BVAU 3,300 mg/kg¹³⁾¹⁴⁾と報告されているが、C3H マウスではそれは低いと考えられた。大量投与時、薬剤の毒性、副作用などによりマウスの癌抵抗性が低下したためか腫瘍の縮小がみられなかった。

これら薬剤は主に抗ウイルス剤として開発された薬剤であるが、現在抗ウイルス剤として臨床上有効なものとして ACV がある。この ACV は副作用が少なく安全な薬剤とされている^{15)~18)}。この ACV を放射線治療時に併用すれば、われわれの

今回の結果より癌治療の向上が期待できる。

この放射線増強機構は、抗ウイルス作用を考えたとき、DNA 修復の阻害が考えられる。ACV の抗ウイルス作用は、ACV がリン酸化をうけ acyclo GTP となり、これがウイルスの DNA ポリメラーゼを阻害し DNA の複製を阻害することが知られている¹⁹⁾。またこれ以外の薬剤も同様な作用であると考えられている²⁰⁾。

しかしこれら薬剤を放射線増感剤として臨床に使用する場合、腫瘍のみでなく正常組織に与える障害についても考慮しなければならない。Bagshaw⁶⁾らは、頭頸部癌での BUDr の臨床例で放射線の制癌効果は増強されたが、口腔内正常粘膜の障害も強くおこり、臨床での有効性は少ないと報告している。このためわれわれは、ddY マウスに全身照射を行ない各薬剤の併用による照射後の生存率を調べ、正常組織に対する影響を検討した。ACV, BVAU など放射線制癌効果を増強する薬剤は、全身照射時に併用した場合マウスの生存率を下げる結果となった (Fig. 4)。このことはこれらの薬剤を併用することで正常組織に対する放射線障害も増強すると考えられた。したがって正常組織障害モデルとして、マウス全身照射時の生存率にみられた効果について、他の障害の系で検討する必要があると考えられた。

5. 結 語

種々の核酸類似物質について、マウス実験系で放射線制癌効果増強、および正常組織の放射線障害に与える影響について調べた。

① 3'-dG, ACV, BVAU, FIAC, FMAU に放射線制癌効果の増強がみられた。

② TCD-50法による ER は3'-dG 1.15, ACV 1.23, BVAU 1.30, FIAC 1.07, FMAU 1.26の値を得た。

③ ddY マウス全身照射時、ACV, BVAU, Ara-A の併用による場合は放射線単独に比べて生存率が低下した。

以上より今回われわれが調べた核酸類似物質の中で、放射線増感剤として有効な薬剤が得られた。その中でも ACV はすでに抗ウイルス剤として臨床で使用されている。放射線治療時 ACV を併用

することで癌治療の向上が期待できる。しかしその際、正常組織に与える障害についても充分に考慮する必要があると思われる。

文 献

- 1) Diordjevic, B. and Szybalski, W.: Genetics of human cell lines. III. Incorporation of 5-bromo and 5-iododeoxyuridine into the deoxyribonucleic acid of human cells and its effect on radiation sensitivity. *J. Exp. Med.*, 112: 509—531, 1960
- 2) Erikson, R.L. and Szybalski, W.: Molecular radiobiology of human cell lines. V. Comparative radiosensitizing properties of 5-halodeoxycytidines and 5-halodeoxyuridines. *Radiat. Res.*, 20: 252—262, 1963
- 3) Szybalski, W.: X-Ray sensitization by haloprimidines. *Cancer Chemother. Rep.*, 58: 539—557, 1974
- 4) Hoshino, T. and Sano, K.: Radiosensitization of malignant brain tumors with bromouridine (thymidine analogue). *Acta Radiol. Ther. Phys. Biol.*, 8: 15—26, 1969
- 5) Hoshino, T.: Radiosensitization of brain tumors. In *Modern Radiotherapy and Oncology: CNS Tumors*. T.J. Deeley, (Ed.), Butterworth, London, pp. 170—184, 1974
- 6) Bagshaw, M.A., Dogget, R.L.S., Smith, K.C., Kaplan, H.S. and Nelson, T.S.: Intra-arterial 5-bromodeoxyuridine and X-Ray therapy. *Radiology*, 99: 886—894, 1967
- 7) Kriss, J.P. and Revesz, L.: The distribution and fate of bromodeoxyuridine and bromodeoxycytidine in the mouse and rat. *Cancer Res.*, 22: 254—265, 1962
- 8) Kriss, J.P., Maruyama, Y., Tung, L.A., Bond, S. B. and Revesz, L.: The fate of 5-bromodeoxyuridine, 5-bromodeoxycytidine and 5-iododeoxycytidine in man. *Cancer Res.*, 23: 260—268, 1963
- 9) Kinsella, T.J., Russo, A., Mitchell, J.B., Rowland, J., Jenkins, J., Schwade, J., Myers, C.E., Collins, J.M., Speyer, J., Kornblith, P., Smith, B., Kufra, C. and Glatstein, E.: A phase I study of intermittent intravenous bromodeoxyuridine (BUDr) with conventional fractionated irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 10: 69—76, 1984
- 10) Kinsella, T.J., Mitchell, J.B., Russo, A., Morstyn, G. and Glatstein, E.: The use of halogenated thymidine analogs as clinical radiosensitizers: rational, current status, and future

- prospects: non-hypoxic cell sensitizers. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.*, 10: 1399—1406, 1984
- 11) U.R., Nakatsugawa, S., Takahashi, M., Ono, K., Abe, M., Kumar, A., Nagata, H. and Sugahara, T.: 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
- 12) Tucker, W.E. Jr., Macklin, A.W., Szot, R.J., Johnston, R.E., Elion, G.B., De Miranda, P. and Szczech, G.M.: Preclinical toxicology studies with acyclovir: Acute and subchronic tests. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 3: 573—578, 1983
- 13) Machida, H. and Sakata, S.: In vitro and in vivo antiviral activity of 1- β -D-arabinofuranosyl-E-5-(2-bromovinyl) uracil (BV-araU) and related compounds. *Antiviral Res.*, 4: 135—141, 1984
- 14) Machida, H., Ichikawa, M., Kuninaka, A., Saneyoshi, M. and Yoshino, H.: Effect of treatment with 1- β -D-arabinofuranosylthymine of experimental encephalitis induced by herpes simplex virus in mice. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 17: 109—114, 1980
- 15) Tucker, W.E. Jr.: Preclinical toxicology of acyclovir, An overview. *Am. J. Med.*, 73: 27—30, 1982
- 16) Whitley, R.J., Blum, M.R., Barton, N. and De Miranda, P.: Pharmacokinetics of acyclovir in humans following intravenous intravenous administration. A model for the development of parental antivirals. *Am. J. Med.*, 73: 165—171, 1982
- 17) Keeney, R.E., Kirk, L.E. and Bridgen, D.: Acyclovir tolerance in humans. *Am. J. Med.*, 73: 176—181, 1982
- 18) Elion, G.B.: Mechanism of action and selectivity of acyclovir. *Am. J. Med.*, 73: 7—13, 1982
- 19) De Clercq, E.: Selective antiherpes agents. *Trends Pharmacol. Sci.*, 3: 492—495, 1982
- 20) Scott, A.: The search for viral penicillin. *New Scientist*, 10: 642—645, 1983