

研究速報

## ヒドロキサム酸型ニトロイミダゾール KIN-804の 実験動物腫瘍に対する放射線増感効果

大阪市立大学医学部放射線医学教室

多田 卓仁 中島 俊文 小野山靖人

慶応大学薬化学研究所

永澤 秀子 堀 均 稲山 誠一

（平成3年10月29日受付）

（平成4年3月10日最終原稿受付）

### Radiosensitizing Effect of a 2-Nitroimidazole Hydroxamate (KIN-804) to Murine Tumors

Takuhito Tada, Toshifumi Nakajima and Yasuto Onoyama

Department of Radiology, Osaka City University Medical School

Hideko Nagasawa, Hitoshi Hori and Seiichi Inayama

Pharmaceutical Institute, School of Medicine, Keio University

---

Research Code No. : 600.4

---

Key Words : Hypoxic cells, Radiation-sensitizing agents,  
KIN-804

---

We studied the toxicity, pharmacokinesis and radiosensitizing effect of a newly developed 2-nitroimidazole-1-methylacetohydroxamate (KIN-804) in C3H/He mice bearing SCC-VII tumor. They were compared with misonidazole. LD<sub>50/7</sub> of KIN-804 and misonidazole were 3200 and 2000 mg/kg. The concentration of KIN-804 in the brain and sciatic nerve was at a very low level and its clearance from the sciatic nerve was rapid. Enhancement ratios calculated using the growth delay method were 1.50 for KIN-804 and 1.36 for misonidazole respectively when they were administered by intraperitoneal injection with a dose of 100 mg/kg. KIN-804 was considered to be a promising radiosensitizer because it obtained less toxicity and a higher radiosensitizing activity than misonidazole.

#### はじめに

悪性腫瘍に含まれる低酸素細胞は、その放射線抵抗性のため治療を困難なものにする原因の一つとされている。その対策として低酸素性細胞放射線増感剤（以下増感剤）が考案されたが、代表的薬剤である misonidazole（以下 MISO）は臨床使用において神経毒性のために、増感効果を得るのに必要な用量を投与することができなかった<sup>1)~4)</sup>。以後、より低毒性、より高い効果を求めて

増感剤の開発が各国で行われている。

神経毒性に関与する脂溶性低下をねらって筆者らは2-ニトロイミダゾールの種々のヒドロキサム酸側鎖置換体を開発してきた<sup>5)6)</sup>。KIN-804（2-nitroimidazole-1-methylacetohydroxamate 以下 KIN）（Fig. 1）もその一つで、in vitro では優れた増感効果が証明されている<sup>7)</sup>。臨床使用をめざす次の段階として、in vivo における特性が問題となる。筆者らは実験動物腫瘍を用いて、KIN の in

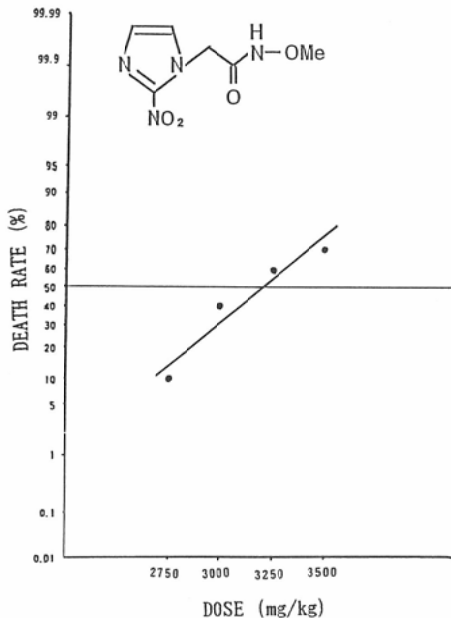


Fig. 1 Dose-mortality line and Chemical structure of KIN-804. LD<sub>50</sub>/7 is 3200mg/kg. Molecular weight is 200.2.

vivo における毒性と増感効果を中心に MISO と比較検討した。

#### 材料及び方法

実験動物として C3H/He 雄マウス (20~25g) を、実験腫瘍として SCC-VII を使用した。薬剤は生理食塩水に溶解し、腹腔内投与した。

##### ① 急性毒性

50%のマウスが7日以内に死亡する薬剤量 (LD 50/7) を急性毒性の指標とした。各群10匹の10週齢マウスに対し、種々の用量で投与し7日間の生死を観察した。LD 50/7の算出は、正規確率用紙に各用量における死亡率をプロットし、最小自乗法にて dose-mortality line を作成することにより求めた。

##### ② 生体内分布

マウス大腿部皮下に移植した腫瘍が直径10~15 mm になった時点で使用した。KIN 100mg/kg 投与後経時的に脱血屠殺し血液、脳、腫瘍、坐骨神経を採取した。それぞれに蒸留水を加え、固形物はホモゲナイズした後に、さらにアセトニトリルを加えて除蛋白した。遠心分離後の上澄をフィル

ター濾過後 high performance liquid chromatography の試料とし、濃度を測定した。装置は島津製作所製 LC-6A を使用した。分析条件は以下の通りとした。

column: ODS; I, D 4.5mm, L 250mm

carrier: 67%acetonitrile, 33%water

flow rate: 0.3ml/min

detection: 325nm

temperature: 50℃

##### ③ 増感効果

8週齢マウス大腿部皮下に腫瘍を移植した。2~3週間後、腫瘍径が8~10mm となった時点で実験に供した。KIN あるいは MISO 100mg/kg を投与後30分に無麻酔で固定の上 X 線を一回照射した。患側大腿以外は3mm 鉛板にてしゃへいした。一群6~10匹として、薬剤投与群には15, 20, 25Gy を、コントロール群には20, 30, 40Gy を照射した。装置は Siemens 社製 Stabilipan II を用い、フィルターは2mmAl, 条件は電圧200kVp, 線量率3.7Gy/min とした。照射後2日毎に腫瘍の長径と短径を計測し、面積比で3倍となる時点での Growth delay を求めた。そこから growth delay 10日を得るのに必要な線量を算出し増感率を求めた。

#### 結 果

##### ① 急性毒性

dose-mortality line より KIN の LD 50/7 は 3,200mg/kg という値が得られた。薬剤投与後10~30分の時点で、多数の例に、運動量の低下、努力性呼吸が認められた。けいれん等は見られなかった。死亡例は大部分1日以内であった。

##### ② 生体内分布

KIN の体内動態を Fig. 2 に示した。KIN の血液内への移行は良好で、10分後の値から時間とともに低下した。腫瘍内濃度は20分、坐骨神経内濃度は40分にピークを示し、坐骨神経からのクリアランスは良好であった。脳へはほとんど分布しなかった。

##### ③ 増感効果

線量と growth delay の関係を示すグラフ (Fig. 3) より growth delay 10日を得るのに必要な線量

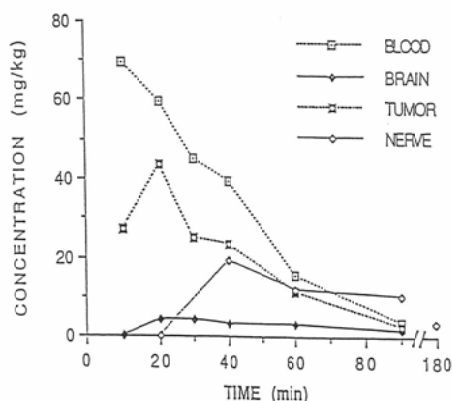


Fig. 2 Pharmacokinetics of KIN-804. Change of concentration in blood, brain, sciatic nerve and tumor according to time after injection.

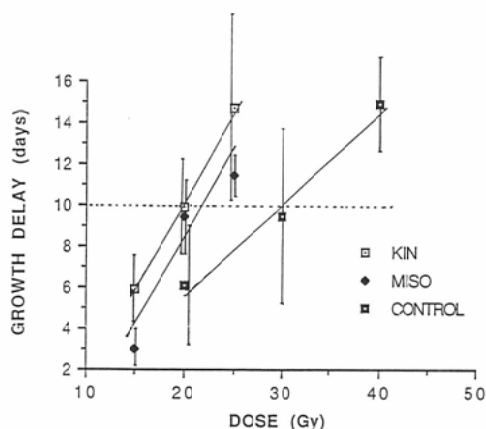


Fig. 3 Growth delay of SCC-VII tumor as a function of the radiation dose.

は、KINで20Gy、MISOで22Gy、コントロールで30Gyであった。growth delay 10日の条件における増感率はKINで1.50、MISOで1.36と計算された。

### 考 案

MISOの臨床使用の際問題となった毒性に関し、マウスにおけるLD<sub>50/7</sub>と比較すると、KINは3,200mg/kg、MISOは2,000mg/kgであり、急性毒性は低いと考えられた。一方、増感剤の神経毒性はその側鎖構造によって規定される脂肪親和性に深く関係すると言われている<sup>8)</sup>。KINの水・オクタノール分配比は0.084 (MISOでは0.43) と親

水性を示すことから予想されるように、生体内分布の実験では脳へ移行は非常に少なく、末梢神経からのクリアランスも良好であることが示され、神経毒性の軽減も期待される。

一方、増感効果に関しても、100mg/kgの条件下でKINは1.50、MISOは1.36と高値が得られた。しかしながらFig. 3が示すとうり筆者らの実験ではばらつきが多く、有効性の証明には追加実験が必要と考えられた。

以上、毒性、効果比からみて、KINはMISOより優れた増感剤候補物質で、その有用性について、他の腫瘍系や検定法をも使用した詳細な検討に値すると考えられた。

### 文 献

- 1) Wasserman TH, Stetz J, Phillips TL: Radiation therapy oncology group clinical trial of misonidazole. *Cancer* 47: 2382-2390, 1981
- 2) Medical Research Council: The medical research council trial of misonidazole in carcinoma of the uterin cervix: A report from the MRC working party on misonidazole for cancer of the cervix. *Brit J Radiol* 57: 491-499, 1984
- 3) Leibel S, Bauer M, Wasserman TH, et al: Radiotherapy with or without misonidazole for patients with stage IIIB or IVA squamous cell carcinoma of the uterin cervix: Preliminary report of a radiation therapy oncology group randomized trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 13: 541-549, 1987
- 4) Fazekas J, Pajak L, Wasserman TH, et al: Failure of misonidazole-sensitized radiotherapy to impact upon outcome among stage III-IV squamous cancers of the head and neck. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 13: 1155-1160, 1987
- 5) Hori H, Murayama C, Mori T, et al: KIH-802: 2-nitroimidazole-1-acetohydroxamate as a hypoxic radiosensitizer. *Int J Radiat Oncol Biol Phys* 16: 1029-1032, 1989
- 6) 福田晴行, 多田卓仁, 津村 昌, 他: 2-ニトロイミダゾール誘導体RP-170およびKIH-802の放射線増感効果に関する実験的検討, *大阪医会誌*, 39: 575-593, 1990
- 7) Nagasawa H, Bando M, Hori H, et al: Radiosensitizing, toxicological and pharmacokinetic properties of hydroxamate analogues of nitroimidazoles as bifunctional radiosensitizers/chemical modifiers. *Int Conf Chem Mod Cancer Treatment* 7: 158-159, 1991
- 8) Brown JM, Workman P: Partition coefficient as a guide to the development of radiosensitizers which are less toxic than misonidazole. *Radiat Res* 82: 171-190, 1980