^{125}I UdR の Auger 電子を利用した局所抗癌療法

洪 誠秀・塚田次郎・川本幸男・亘理 勉^{*1)}Alan A. Alfieri・Sergio Bravo^{*2)}

A local treatment for cancer using ^{125}I UdR Auger electrons

There are two problems in the application of Auger electrons derived from ^{125}I UdR for cancer treatment. One is cell cycle dependency (effective only for S phase cells), the other is side effects for the cell renewal systems (e. g. bone marrow, intestine).

We tried intratumoral injection of ^{125}I UdR oil suspension using Ehrlich ascites tumors in the thighs of mice. Oil suspension was more effective in tumor growth delay than saline solution. Single injection of oil suspension at the dose of 0.46 MBq resulted in 21.5 days growth delay while 1.85 MBq of saline solution resulted in 11.5 days growth delay relative to control growth delay.

At 40 days after treatment, higher radioactivities were observed in the tumor and the skin of the mice treated with oil suspension, which represented prolongation of ^{125}I UdR oil suspension within the tumors.

No normal tissue toxicities were observed. This method can be a new treatment for brain tumors and radioresistant head and neck tumors by further improvements of drug delivery systems

Seong Su Hong・Jiro Tsukada*・

Yukio Kawamoto*・Tsumomu Watari^{*1)}Alan A. Alfieri・Sergio Bravo^{*2)}

key words : ^{125}I UdR, Auger electron, oil suspension, Ehrlich ascites carcinoma, intra-tumoral injection

^{125}I から放出される低 energy Auger 電子は飛程がきわめて短く ($1\ \mu\text{m}$ 以下), ^{125}I UdR の形でいったん細胞核内 DNA に取り込まれると, DNA が直接しかも高密度に照射され, 細胞はことごとく傷害される. その性質は, 中性子線や重粒子線

と同じ high LET type である¹⁾. この強力な効果の癌治療への応用に当って問題は以下の2点であった.

① 細胞周期依存性 (S 期にのみ有効)

② 細胞再生系 (骨髄や小腸など) の障害

しかし, 局所投与の場合, IudR は循環血液中で脱ハロゲンされ②の障害は克服されうるし, ①は頻回または持続投与で解決可能と思われる.

筆者らは, ^{125}I UdR が局所に長時間停滞することをねらい, 油性 ^{125}I UdR を試作し, 手始めにマウス移植 Ehrlich 腹水癌を用い腫瘍内局注を試みた.

材料と方法

(1) 注射液

^{125}I UdR 生食液は市販の ^{125}I UdR 水溶液 (ICN Radiochemicals, Irvine, CA, USA) を生理食塩水で希釈して用いた. 油性 ^{125}I UdR は ^{125}I UdR 水溶液をチッ素ガス流で乾燥させ, 別に調整した 1% aluminum monostearate のゴマ油ゲルと混合して調整した.

(2) 腫瘍系

Ehrlich 腹水癌細胞 100 万個を 6 週齢の雄 Swiss Webster マウス下腿筋肉内に移植し, 腫瘍体積が $1.6 \pm 0.4\ \text{cm}^3$ の大きさに達したものを実験に用いた.

局注は生食液, 油性液ともに容量を $0.1\ \text{ml}$ にそろえ, ketalar 麻酔のもとで腫瘍中央へ 26 ゲージ針を用い注入した. 注入直後 1 分間, 注入部を圧迫した. 1 群は 4~9 匹であった.

遊離ヨードの甲状腺への取り込みを阻止する目的で, 動物実験期間中ルゴール液をマウス飲用水中に添加した.

(3) 抗腫瘍効果の定量化

腫瘍体積 V は, 腫瘍を含めた下腿のもっとも太

^{*1)} Department of Radiology, Dokkyo University School of Medicine 獨協医科大学放射線医学教室

^{*2)} Radiotherapy Research Laboratory, Memorial Sloan-Kettering Cancer Center, New York, USA

図1 Tumor volumes as a function of days after the intratumoral injection of $^{125}\text{IUDR}$ saline solution

Saline alone (●), $^{125}\text{IUDR}$ saline solution 0.93 (◇) or 1.85 (○) MBq/0.1 ml single intratumoral injection. Each data point represents the average obtained from 4-9 animals. Bars, SD.

図2 Tumor volumes as a function of days after the intratumoral injection of $^{125}\text{IUDR}$ oil suspension

Oil alone (▲), $^{125}\text{IUDR}$ oil suspension 0.23 (▽) or 0.46 (△) MBq/0.1 ml single intratumoral injection. Each data point represents the average obtained from 4-9 animals. Bars, SD.

い断面を2方向から計測し、その平均値dから以下の実験式を用いて算出した。

$$V = d^3 - 36d$$

この方法の正確さは、水置換の実験により確認されている²⁾。

増殖遅延(growth delay)は、それぞれの治療群の平均腫瘍体積が 5 cm^3 になるまでの日数から、未処置腫瘍体積の平均が 5 cm^3 になるまで要した日数を引いた値とした。 5 cm^3 の値は、治療時の腫瘍体積の平均値の3倍に相当し、無処置腫瘍はこの大きさになるまで対数増殖を維持する。

局所制御は治療後40日で腫瘍が触れないものとした。

(4) 局所皮膚障害

$^{125}\text{IUDR}$ 水溶液または油性 $^{125}\text{IUDR}$ を腫瘍移植を受けていない正常マウスの下腿皮下に注射し、皮膚反応を観察した。

(5) $^{125}\text{IUDR}$ の体内分布

治療後40日で全生存マウスを屠殺し、主要臓器と腫瘍の放射活性をガンマカウンターにて計測し

た。

結 果

(1) 抗腫瘍効果

$^{125}\text{IUDR}$ 生食液、油性液いずれを用いても Ehrlich 腹水癌の増殖を抑制したが、油性液のほうが投与量は少ないにもかかわらず抑制効果は大きかった(図1, 2)。生食のみ、およびゴマ油ゲルのみの群と、未処置群との間に、腫瘍の増殖における差は検出されなかった。

両治療の増殖遅延と投与 activity の関係を見ると、いずれも濃度依存性を示したが、低濃度では増殖遅延効果は低く非効率的であった(図3)。局所制御率を含めた抗腫瘍効果は表1にまとめた。

非腫瘍移植マウスへの皮下注射では、40日の観察期間、いずれの群にも皮膚の変化は認められなかった。

(2) $^{125}\text{IUDR}$ の体内分布

個体間のばらつきは大きい、生食液にくらべると油性液の注射を受けたほうが皮膚および腫瘍

図3 Growth delays of Ehrlich ascites tumor treated with single intratumoral injection of ^{125}I UdR saline solution(○) or oil suspension(△) as a function of radioactivity of ^{125}I UdR.

Growth delays were relative to the growth delay of untreated control.

表1 Response of intratumoral injection of ^{125}I UdR, saline solution or oil suspension, on the Ehrlich ascites carcinoma in mice

dose treatment (MBq/tumor)	cure/n	growth delay* (days)	SF**
saline alone	0/5	0	1.0
0.93 in saline	0/4	1.5	0.6
1.85 in saline	1/9	11.5	0.019
oil alone	0/6	0	1.0
0.23 in oil	1/9	4.0	0.25
0.46 in oil	1/4	21.5	0.0006

* Growth delays were relative to the growth delay of untreated control.

** SF : survival fraction

の activity は高かった。また、皮膚を除けば油性液注射マウスの残存腫瘍の activity は常に他の臓器の activity より高かった(図4, 5)。

図4 Radioactivities in the organs and tumors of the mice 40 days after single intratumoral injection of ^{125}I UdR saline solution 1.85 MBq/0.1 mL.

Li : liver. Ki : kidney. Sp : spleen. In : small intestine. Th : thyroid gland. Sk : skin of the chest wall including hair. Mu : muscle of the leg of contralateral side. Tu : tumor

Each bar symbol represents organ or tumor activity of each animal.

図5 Radioactivities in the organs and tumors of the mice 40 days after single intratumoral injection of ^{125}I UdR oil suspension 0.23 MBq/mL.

Li : liver. Ki : kidney. Sp : spleen. In : small intestine. Th : thyroid gland. Sk : skin of the chest wall including hair. Mu : muscle of the leg of contralateral side. Tu : tumor

Each bar symbol represents organ or tumor activity of each animal.

腫瘍移植を受けていないマウスの皮下注入の場合、注射後同じく40日で、生食液注射マウスでは注射側と反対側の下肢の皮膚および筋肉間に

図6 Radioactivities in the skin and muscle 40 days after single subcutaneous injection of $^{125}\text{IudR}$, saline solution 1.85 MBq/0.1 ml or oil suspension 0.23 MBq/0.1 ml

InSk: skin of the leg of injection side.
InMu: muscle of the leg of injection side.
ReSk: Skin of the leg of contralateral side.
ReMu: muscle of the leg of contralateral side

activity の差がみられないのに反し、油性液注射マウスでは注射側下肢の皮膚および筋肉の activity は反対側よりもはるかに高かった(図6)。

考 察

$^{125}\text{IudR}$ は, uridine の analog で DNA 合成期の細胞に選択的に取り込まれる。問題は, DNA 合成期にある細胞にしか取り込まれないこと, および正常組織でも皮膚や骨髄などのように細胞の増殖が盛んな組織に取り込みがみられることである。

今回の実験は, 後者の問題を克服するために全身投与ではなく局所投与を選び, 前者の問題解決のためには油性 $^{125}\text{IudR}$ の調整を試み, 腫瘍組織内停滞時間の延長を図った。投与量においては, ^{125}I による密封小線源治療など(少なくとも腫瘍 1 cm^3 当り数 10 MBq 使用)にくらべ, ごくわずか(0.23~1.85 MBq)であったが, 水性, 油性ともに抗腫瘍効果が認められた。なかでも, 油性 $^{125}\text{IudR}$ は投与量が水性のその 1/4 であったにも

かかわらず効果は顕著であった。

局所注射後 40 日で, 油性 $^{125}\text{IudR}$ 注射群の注射側皮膚および腫瘍の activity が反対側より高かったことは, $^{125}\text{IudR}$ が局注部位にながくとどまっていることを示唆する。というのは, 腫瘍細胞に取り込まれなかった $^{125}\text{IudR}$ は循環血液中に入り, そこで徐々に脱ハロゲンを受け非活性 ^{125}I となる。しかし, 脱ハロゲンを受けるまでの $^{125}\text{IudR}$ は, 小腸や皮膚などの DNA 合成細胞に取り込まれる。 $^{125}\text{IudR}$ が徐々に放出されれば, 腫瘍のみならず付近の細胞再生系の皮膚への取り込みも当然増す。

小腸の activity が高くないのは, 小腸には皮膚と違って角化層がなく, 成熟した細胞は取り込まれた $^{125}\text{IudR}$ とともに小腸腔内へ脱落していくからと考えられる。

今回の動物実験では完全な局所コントロールを得るまでには至らなかった。投与量が少なかったことがまず第一に考えられるが, 試験管内での IudR の油層から水層への移行を調べた実験によると, IudR の油層内での停滞は数時間の範囲であり(洪他, 未発表データ), 腫瘍内の全細胞が DNA 合成期を経過して $^{125}\text{IudR}$ を取り込むにはいかに油性にしても限界があるように思われた。繰り返しの投与か, またはさらなる DDS の工夫が必要のようである。

炎症病巣を検出するための核医学検査で, 白血球を標識するために用いられる薬剤に, ^{111}In -2-mercaptopyridine-N-oxide(^{111}In -merc)がある。この薬剤は細胞への取り込みに細胞周期依存性がなく, 一度取り込まれると排出されない³⁾。しかも, ^{111}In は $^{125}\text{IudR}$ と同じように適当なエネルギーの Auger 電子を放出する⁴⁾。筆者らは, ^{111}In -merc の放射線細胞毒性を HeLa 細胞を用いて検討し, Auger 電子の細胞傷害効果を確認している⁵⁾。腫瘍に選択的に取り込まれることはないが, 局注の場合はこのような薬剤も腫瘍の局所コントロールに関して効果的かもしれない。

Auger 電子の細胞傷害効果は, 中性子線や重粒子線と同じ high LET type である。しかし, 中性子線や重粒子線と違って膨大な施設や巨額の財源を必要としない。進行癌の新しい治療の理想は, 全身に広がった癌細胞を一つ残らず根こそぎにす

る全身療法であるが、多くの進行癌ははじめのうちは局所にとどまっていながら、いかなる治療にも抵抗し進行していく。特に、脳腫瘍や頭頸部腫瘍などの多くの症例は、局所さえ完全に制御されれば治癒しうる。その点からも本研究の新たな発展が望まれる。

結 論

$^{125}\text{IUdR}$ 油性液の腫瘍内局注の効果をマウス下腿移植 Ehrlich 腹水癌を用いて検討した。生食液、油性液、いずれを用いても腫瘍の増殖を抑制したが、油性液のほうが投与量は少ないにもかかわらず、抑制効果は大きかった。完全な局所コントロールを得るためには繰り返しの投与か、またはさらに DDS の工夫が必要に思われた。

文 献

- 1) Hoffer, K. G., Keough, G., Marshall Smith, J.: Biological toxicity of Auger emitters: molecular fragmentation versus electron irradiation. *Current Topics in Radiat. Res.* 12: 335-354, 1977.
- 2) Alfieri, A. A., Hahn, E. W.: An *in situ* method for estimating cell survival in solid tumor. *Cancer Res.* 38: 3006-3011, 1978.
- 3) Choi, H., Hwang, K. J.: Mechanism of ionophoric transport of indium-111 cations through a lipid bilayer membrane. *J. Nucl. Med.* 28: 91-96, 1987.
- 4) Silvester, D. J.: Consequences of indium-111 decay *in vivo*. Calculated absorbed radiation dose to cells labeled by indium-111 oxine. *J. Labeled Compounds and Radiopharmaceuticals* 16: 193-194, 1979.
- 5) Hong, S. S., Ford, E. H., Greenspan, B.: Radiation toxicity of indium-111-2-mercaptopyridine-N-oxide on HeLa S-3 cells. *British J. Radiol.* 62: 468-472, 1989.