マウス移植悪性腫瘍に対するイミダゾール化合物の
放射線増感作用について
——第4報 KB cell (ヒト口底から舌の poor differentiated epidermoid
carcinoma) に対するイミダゾール化合物の増感作用——

酒泉和夫・瀬沼 滋・佐藤 一人・永井哲夫*
藤野雅美*・高門 渡*

**Experimental radiosensitizer therapy for malignant
tumor transplanted to nude mice**
**(4) Radiosensitive effect of imidazole compounds for human mouth
floor-tongue poor differentiated epidermoid carcinoma**

Kazuo SAKAIZUMI • Shigeru SENUMA • Kazuhito SATO
Tetsuo NAGAI* • Masami FUJINO* • Wataru TAKAKADO*

Abstract: We had demonstrated in the former investigation that the effectiveness of imidazole radiosensitizer that is misonidazole, dinitroimidazole ethanol and 5-methoxy carbonyl-2-methyl sulfinyl-1-methyl imidazole for Ehrlich solid carcinoma transplanted into nude and conventional mice.

In this study, we report the effectiveness of imidazole radiosensitizer for oral malignant tumor.

Methods and evaluation: Battelle Columbus Laboratories Protocol.

Tumor: KB cell=human mouth floor-tongue poorly differentiated epidermoid carcinoma. Tumors were transplanted to subcutaneous of the right thigh of each mouse.

Subjects: Male nude CD-1 (ICR) mice (10 weeks age, 20-25 body weight).

Radiosensitizer: misonidazole (MISO), dinitroimidazole ethanol (DNIE) and 5-methoxy carbonyl-2-methyl sulfinyl-1-methyl imidazole (KIH-3).

Radiation: ^{60}Co 15 Gy local radiation. These radiosensitizers were administrated into the abdomen of the mice prior to 30 minutes of local irradiation.

Results: On KB cell of nude ICR mice, tumor reduction effect was evaluated on MISO 20 mg + ^{60}Co 15 Gy group, but tumor recurred after 4 days, therefore the sensitization effect was not evaluated.

Radiosensitization effect was evaluated DNIE 10 mg + ^{60}Co 15 Gy group. There is no effect in KIH-3 40 mg + ^{60}Co 15 Gy group.

Key words: nitro and non nitro imidazole, radiosensitizer, KB cell

東海大学医学部口腔外科学教室
(指導: 酒泉和夫教授)

* 慶応義塾大学医学部歯科口腔外科学教室
(主任: 野本種邦教授)

Department of Oral Surgery, School of Medicine, Tokai University (Group chairperson:

Prof. Kazuo Sakaizumi)

* Department of Dentistry and Oral Surgery, School of Medicine, Keio University (Chief: Prof. Tanekuni Nomoto)

受付日: 昭和61年6月24日

緒 言

われわれは第1¹⁾・2²⁾・3³⁾報において通常マウスとヌードマウスへ移植したエールリッヒ癌に対し、放射線増感剤を併用した実験治療を行い、治療効果は増感剤の作用のみではなく宿主の有する生体反応に深く関係していることを報告した。第4報よりヒト口腔悪性腫瘍に対する効果について検討する。

今回使用した腫瘍はヒト舌から口底の未分化型類表皮癌で、通常 KB cell と呼ばれている。

放射線増感剤はニトロ基のないもの、1個もつもの、2個もつものの3種類を使用した。

実験方法

実験動物は日本チャールズリバーで産生された雄の ICR ノードマウスで、本学動物室のビニールアイソレーター内で飼育した。実験には体重約 20 g のものを、1 群 4～5 匹として用いた。

使用した腫瘍 KB cell は前述したごとく、ヒトの舌から口底にかけての poorly differentiated epidermoid carcinoma で、54歳の米国白人男性 K.B. より得たものである。1954年に L.B. Thomas が採取し、NIH の H.

Eagle⁴⁾ が継代培養に成功した世代時間約 30 時間の細胞である。われわれはこの KB cell を慶応義塾大学医学部微生物学教室高野利也教授より分与を受け、ヌードマウス上に固型腫瘍として発育させ実験に使用した。本腫瘍の組織所見は形態的には上皮性で、細胞表面に毛状突起を認める(写真1, 2)。

イミダゾール系放射線増感剤は misonidazole, dinitroimidazole ethanol, 5-methoxy carbonyl-2-sulfinyl-1-methylimidazole の3種類で(図1)、マウス当たりの投与量は MISO は 20 mg, DNIE は 10 mg, KIH-3 は 40 mg であった。実験および効果判定は前報と同様 Battelle Columbus Laboratories Protocol で行った。

実験結果

腫瘍移植後25日目までの5群それぞれの腫瘍増殖の推移は、コントロール群では良好な発育を認め、本実験にヌードマウス ICR を使用することが可能であると判断された。⁶⁰Co 15 Gy 単独照射群では腫瘍は8日目までは 300 mg 以下であったが、11日目以後はコントロール群と同様な増殖となり、腫瘍増殖抑制効果は不十分であった(図2)。

MISO 20 mg + ⁶⁰Co 15 Gy 併用群では、実験開始時の腫瘍重量が5群中最大のため増殖が早く、4日目には一

写真1 KB cell (未分化型類表皮癌) の弱拡大組織像

写真2 KB cell (未分化型類表皮癌) の強拡大組織像

図1 イミダゾール系放射線増感剤

図2 ネードICRマウスにおけるKB cellの増殖曲線

図3 KB cellの補正増殖曲線

表1 治療別抗腫瘍効果(コントロールとの比較)

Nude ICR	^{60}Co 15 Gy	(+)
Nude ICR	MISO 20 mg + ^{60}Co 15 Gy	(++)
Nude ICR	DNIE 10 mg + ^{60}Co 15 Gy	(+)
Nude ICR	KIH 40 mg + ^{60}Co 15 Gy	(+)

表2 治療別抗腫瘍効果(^{60}Co 15 Gy との比較)

Nude ICR	MISO 20 mg + ^{60}Co 15 Gy	(-)
Nude ICR	DNIE 10 mg + ^{60}Co 15 Gy	(+)
Nude ICR	KIH 40 mg + ^{60}Co 15 Gy	(-)

度 300 mg 以上となったが、8日目には実験開始時の重量よりも減量し、腫瘍縮小を認めた。DNIE 10 mg + ^{60}Co 15 Gy 併用群では、実験開始時の腫瘍重量が5群中第2位のため、前群同様8日目には一度 300 mg 以上となったが、11日目には 300 mg 以下となり以後18日まで腫瘍重量はわずかながら減少したが、実験開始時重量よりも縮小することにはなかった。KIH-3 40 mg + ^{60}Co

15 Gy 併用群では、4日目・8日目には腫瘍増殖抑制を認めたが8日目以後は増殖が再発した。

本実験法は実験開始時の腫瘍重量が 100~300 mg と幅を有するため、実測値を示すグラフでは治療法別の実験結果の優劣が判定しにくい、5群の実験開始重量を総て 100 mg に補正した(図3)。

以上の実験結果を Battelle Columbus Laboratories

表 3 ヌードマウスの白血球像

マウス	白血球数	顆粒球数	リンパ球数	好中球数	好酸球数	好塩基球数
BALB/C (M)	3,138	1,675	1,463	33.2	4.9	3.0
(F)	2,380	1,134	1,246	23.5	5.5	2.3
ICR (M)	14,200	2,570	13,600	2,100	380	90
(F)	12,900	2,570	11,300	2,200	310	60

(個/ μ l)

Protocol によりコントロール群と比較した効果を判定すると、MISO 20 mg+⁶⁰Co 15 Gy 併用群が(++)で最も抗腫瘍が認められ、その他の群の効果判定は(+)であった(表1)。

また増感効果をみるため放射線単独照射と比較した効果をみると、増感剤を併用した3群中 DNIE 10 mg+⁶⁰Co 15 Gy 併用群のみが(+)で、その他の群の効果は(-)であった(表2)。

考 察

KB cell のヌード ICR マウス上でのコントロール群の発育は良好で、エールリッヒ癌の増殖¹⁾よりも著明であった。しかしながらコントロール群も治療群もほとんど同様な増殖をしたエールリッヒ癌の場合とは異なり、KB cell では治療を行った4群はどれも腫瘍増殖抑制効果を認めている。特記すべき所見は MISO 20 mg+⁶⁰Co 15 Gy 併用群においては腫瘍縮小が認められ、コントロール群と比較を行う本法において、(++)著効と判定された。しかしながら真の放射線増感効果は単独照射群と比較の方が合理的であると考えられる。本実験においては単独照射群が優れた腫瘍増殖抑制効果を現し、単独照射群と比較すると効果の差はわずかで、本法の判定公式にて試算した結果、表2のごとく MISO 20 mg 併用群に増感作用があるとは判定できなかった。一方 DNIE 10 mg 併用群では腫瘍縮小はなかったが、長期にわたり腫瘍増殖抑制が継続したため、徐々にではあるが腫瘍増殖が続いた単独照射群との間に効果の差を生じ、増感効果を認めるにいたった。

KIH-3 併用群では単独照射群と比較した場合の増感効果は認められず、むしろ放射線単独よりも治療成績は低かった。KIH 系は非ニトロの増感剤で、ニトロ化合物よりも毒性を少なくする目的で分子設計された薬物で、事実ニトロ基を2個有する DNIE の4倍の投与がヌード ICR・ddY・通常 ICR マウスにおいて可能であったが、今回の KB cell に対してのみならず、第3報³⁾での ddY マウス上のエールリッヒ癌においてもコントロール群のうわまわる腫瘍増殖が認められた。今回のヌード ICR マウス上の KB cell に対して KIH-3 による

増感が認められない理由として、KIH-3 がヌード ICR マウスの抗腫瘍機構を障害していることが考えられた。しかし第3報で述べたようにヌードマウス上のエールリッヒ癌に対しては比較的治疗成績が良好であることから、KIH-3 がヌード ICR マウスの抗腫瘍機構を障害しているとは必ずしもいえなかった。

表3はヨーゲン・リガード⁹⁾と Mitruka⁹⁾のヌードマウスの白血球系を比較したもので、BALB/c と ICR とでは数値に相当の相違のあることが認められる。腫瘍免疫と直接関連するものは T cell あるいは NK 活性であり、表にはその数値は示されていないが、腫瘍免疫と間接的に影響する血球数をみても、ICR マウスの方が疾病に対する抵抗力が勝っているように推定された。

ヒト頭頸部腫瘍の NK 活性をみると、化学療法では低下するが放射線照射ではほとんど不変で⁷⁾、放射線療法はこの立場からも有意義である。しかし化学療法においても放射線併用に相乗効果を示し増感を認めるものもあり、また bleomycin によってサプレッサー活性が消失するため、抗腫瘍エフェクター活性が増強され⁸⁾、actinomycin D は直接毒性を示さない低濃度において、好中球と共同して殺菌細胞作用を示し⁹⁾、aclacinomycin がサプレッサー活性を抑制する事実¹⁰⁾、L1210 ワクチンと 6 MP 併用にて免疫抑制 T cell と免疫抑制マクロファージを選択的に中和する T cell の出現¹¹⁾、cyclophosphamide の小量投与が免疫抑制 T cell を障害し宿主全体の免疫を高めること¹²⁾など、免疫増強反応の報告も多くみられる。われわれが実験したイミダゾール化合物は前述した抗癌剤と性質を異にするが、宿主免疫と密接に関連していることが伺えた。

結 語

1. KB cell はヌード ICR マウス上でも発育が可能で、かつ実験に十分使用できると認められた。
2. ニトロ基1個の MISO 20 mg 併用群では腫瘍縮小が認められ、著効であった。
3. ニトロ基2個の DNIE 10 mg 併用群は持続的腫瘍増殖抑制を認め、放射線単独群と比較して増感作用が認められた。

4. ニトロ基のない KIH-3 40 mg 併用群は放射線単独群よりも治療効果は低く、増感作用は認められなかった。

稿を終えるに臨み KB cell の分与をいただいた慶応義塾大学医学部微生物学教室高野利也教授、増感剤の分与をいただいた慶応義塾大学医学部薬化学研究所稲山誠一教授、 ^{60}Co 照射にご協力いただいた本学放射線科学教室Ⅱ母里知之教授および放射線技士各位、本学共同利用研究動物舎田中睦男氏・兼井 浩氏に感謝の意を表します。

なお、本論文の一部は第29回日本口腔外科学会総会、第43回日本癌学会、昭和59年度厚生省がん研究田中一班会議において発表した。

引用文献

- 1) 酒泉和夫、瀬沼 滋、他：マウス移植悪性腫瘍に対するイミダゾール化合物の放射線増感作用について。第1報 エールリッヒ固型癌に対するミソニダゾールの放射線増感作用。日口外誌 31: 1827-1833 1985.
- 2) 酒泉和夫、瀬沼 滋、他：マウス移植悪性腫瘍に対するイミダゾール化合物の放射線増感作用について。第2報 エールリッヒ固型癌に対する dinitroimidazole ethanol の放射線増感作用。日口外誌 32: 8-14 1986.
- 3) 酒泉和夫、瀬沼 滋、他：マウス移植悪性腫瘍に対するイミダゾール化合物の放射線増感作用について。第3報 エールリッヒ癌に対する 5-

methoxy carbonyl-2-methyl sulfinyl-1-methylimidazole の放射線増感作用。日口外誌 32: 541-547 1986.

- 4) Eagle, H.: Propagation on a fluid medium of a human epidermoid carcinoma, strain KB. Proc Soc Exp Biol Med 89: 362-364 1955.
- 5) ヨーゲン・リガード：南 一守・伊藤正彦訳：ヌードマウス——その免疫生物学——。第1版、近代出版、東京、1979、57-75頁。
- 6) Mitruka, R.M., Rawnsley, H.M.: 石井 暢、吐山豊秋、他監訳：実験動物とヒトの血液・臨床生化学検査値集。第1版、清至書院、東京、1983、60-61頁。
- 7) 三宅浩郷：上顎癌の治療をめぐる諸問題。第1版、港北出版、東京、1984、130頁。
- 8) 細川真澄男：担癌動物におけるサプレッサー活性とエフェクター活性の bleomycin による修飾。第44回日本癌学会総会記事、シンポジウムⅡ-1、1985.
- 9) 山崎正利：actinomycin D と好中球の共同作用による殺癌細胞効果。第44回日本癌学会総会記事、シンポジウムⅡ-2、1985.
- 10) 石塚雅章：抗腫瘍抗生物質による免疫修飾。第44回日本癌学会総会記事、シンポジウムⅡ-4、1985.
- 11) 片岡達治：6-mercaptopurine による免疫抑制マクロファージの除去とその治療的意義。第44回日本癌学会総会記事、シンポジウムⅡ-5、1985.
- 12) 新田和男、田中富子：抗癌剤による宿主免疫反応の増強。第44回日本癌学会総会記事、シンポジウムⅡ-6、1985.