原 著

温熱による細胞不活性化についての物理的解析

第II報 熱耐性と損傷修復の関係

加藤博和^{1,2)} 古川雅彦²⁾ 石田哲哉²⁾

1) 島根医科大学実験実習機器センター

2) 島根医科大学放射線医学教室

Physical Analysis of Heat-induced Cellular Inactivation (II)

Thermotolerance and Repair Time for Heat induced Damage

Hirokazu Kato^{1,2)}, Masahiko Furukawa²⁾ and Tetsuya Ishida²⁾

1) Central Research Laboratories, Shimane Medical University

2) Department of Radiology, Shimane Medical University

Summary

We propose a model for lethal thermal effects on cells. Thermotolerance is also included. Three steps in the process to cellular inactivation are hypothesized. 1) A group of lethally affected atoms in a cell sometimes gains a great amount of kinetic energy due to thermal fluctuation which causes damage to the target itself. 2) The cell is inactivated when the target is damaged once or several times. However, 3) the damage is repaired in a certain period after the cell receives it. This is called the damage repair time. The damage repair time depends on temperature and period of heating. The surviving fractions of cells were calculated as functions of temperature and heating period using the above model. The resulting surviving fraction curves showed the induction of thermotolerance.

Key Words:

生存率	Surviving fraction
物理的解析	Physical analysis
熱耐性	Thermotolerance
損傷修復時間	Damage repair time

1. 緒 言

細胞を 43 °C以上で加温すると、その生存率は加温時間と共に減少する。この生存率曲線は肩をもった、若しくは肩を持たない指数関数で表すことができる。ところが 42.5 °C以下の加温では、加温が長くなると生存率曲線に tail が現れる (1)。これは加温しているあいだに熱耐性が誘導され細胞の熱に対する致死効果が低下すること

による。この熱耐性の誘導と heat shock protein の増加が対応していることから、熱耐性の誘導と heat shock protein の関係について研究がなされている (2)。しかし細胞の生存率と熱耐性発現のメカニズムとの関係についてはあまり議論がなされていない。熱耐性発現の機構については次の 2 つのタイプが考えられる。即ち、1) 細胞に損傷に対する修復機能がない、2) 細胞に損傷に対す

る修復機能がある。1) の考えとして、Jung のモデルがある(3)。彼は細胞の熱による致死効果を説明するため確率にもとづく2段階モデルを提案した。第1段階では非致死損傷の発生に関する確率であり、第2段階では非致死損傷が致死損傷に転化する確率である。しかしながらこのモデルでは42.5℃以下における熱耐性の誘導については説明することができない。

2) では、i) ひれきした損傷の修復、ii) 損傷に対する耐性の増大、iii) 損傷の発生する割合の抑制、が考えられる。我々は細胞を一つの生体とみなし、細胞は損傷を受けた後ある時間を経過するとその損傷を修復することができるとした。細胞がしきい温度以下で加温されると細胞の損傷を修復するに要する時間、損傷修復時間、が短くなるとし、一方細胞がしきい温度以上で加温されると損傷修復時間が長くなるとした。この仮定を以前に報告した熱におけるhit theory (4) に導入することにより、42.5℃以下における生存率曲線に現れるtailを表現することができた。

II. 熱による細胞の致死効果の概念

ここで提案した熱による細胞の致死効果の概念は次の二つの概念から成り立っている。1つは熱により細胞が損傷を受けることであり、1つは損傷の修復である。

1. 熱による細胞の損傷

細胞内に致死効果を被るところのtargetとなる原子集団が1つ又は複数個あり、熱的揺らぎにより時折大きな運動エネルギーを得るものとする。この運動エネルギーが活性化エネルギーを越えたときtargetに損傷を与えるものとする。この損傷がある回数以上与えられると細胞に不可逆的な効果(致死効果)が生ずるとする。

2. 損傷からの修復

targetに損傷が生じるとそれは永久的に残るのではなく、ある時間が経過すると修復されるものとする。損傷修復時間は加温温度、加温時間に依存するものとする。加温温度がしきい温度以下であれば細胞はStimulateされ損傷修復時間

が短縮されるものとする。そして加温時間が長くなるに従い損傷修復時間は短縮するものとする。逆に加温温度がしきい温度以上であれば損傷修復時間が長くなるものとする。そして加温時間が長くなるに従い損傷修復時間は長くなるものとする。

III. 数式モデル

1. targetの被った損傷が修復されないとき

細胞内に致死に関係したtargetがあり、それに損傷がある回数以上与えられると細胞に致死が見られるとする。targetには熱的擾乱によりBoltzmann分布に従った運動エネルギーが配分されるものとし、EaeV以上の運動エネルギーを被ったときに $\exp(\gamma)$ の確率でtargetに損傷が生じるものとする。細胞にtargetが1個あり、これがr+1回以上の損傷を受けるとき細胞に致死効果が生じるものとする。細胞が温度TK、時間t分加温されるときtargetがm回損傷を被る確率、 $W \downarrow (T, t, m)$ は

$$W(T, t, m) = \frac{\left\{ \int_0^t \exp(-Ea/kT + \beta + \gamma) \cdot dt \right\}^m}{m!}$$

$$\cdot \exp \left\{ - \int_0^t \exp(-Ea/kT + \beta + \gamma) \cdot dt \right\}$$

$$\dots\dots\dots (1)$$

となる(4)。

ここで β は時間・温度に依存しない統計的な係数をまとめたものである。

r回まで損傷が与えられた細胞は生存するものとする、生存率 $S(T, t, r)$ は、式(1)においてmが0からrまでの和となるので、

$$S(T, t, r) = \sum_{m=0}^r W(T, t, m) \dots\dots\dots (2)$$

2. targetの被った損傷が修復されるとき

targetの被った損傷はある時間経過すると修復されるものとする。この損傷修復時間を t_{re} とおく。時刻 $t + \Delta t$ の生存率、 $S(t + \Delta t)$ は、時刻tの生存率を $S(t)$ とすると、

$$S(t+\Delta t) = S(t) \cdot \sum_{m_1=0}^r W(T, t, m_1) \cdot \sum_{m_2=0}^r W(T, \Delta t, m_2) \dots (3)$$

となる。但し、

$$m_1 + m_2 \leq r \dots (4)$$

である。ここで、 $W(T, t, m_1)$, $W(T, \Delta t, m_2)$ は

$$W(T, t, m_1) = \frac{\left\{ \int_{t-t_{rc}}^t \exp(-Ea/kT + \beta + \gamma) \cdot dt \right\} m_1!}{m_1!} \cdot \exp \left\{ - \int_{t-t_{rc}}^t \exp(-Ea/kT + \beta + \gamma) \cdot dt \right\} \dots (5)$$

$$W(T, \Delta t, m_2) = \frac{\left\{ \int_t^{t+\Delta t} \exp(-Ea/kT + \beta + \gamma) \cdot dt \right\} m_2!}{m_2!} \cdot \exp \left\{ - \int_t^{t+\Delta t} \exp(-Ea/kT + \beta + \gamma) \cdot dt \right\} \dots (6)$$

である。

損傷修復時間 t_{rc} は、しきい温度以下では加温時間と共に短縮しそれ以上では加温時間とともに増大するとして、次の式を採用する。

$$t_{rc} = t_0 + \int_0^t \text{sign}(T - T_0) \cdot a \cdot t^b \cdot |T - T_0|^c \cdot dt \dots (7)$$

ここで、 t_0 は加温前における修復時間であり、 T_0 はしきい温度である。 a, b, c は係数である。式(7)において右項が負となるときは $t_{rc} = 1$ とおく。

IV. 計算結果

式(3)に、活性化エネルギー $Ea = 6.3\text{eV}$ 、統計的な係数 $\beta = 230.68$ 、損傷となる係数 $\gamma = -0.4$ 、細胞の耐える損傷回数 $r = 2$ 、初期修復時間 $t_0 = 60$ 分、しきい温度 $T_0 = 42.5^\circ\text{C}$ 、係数 $a = 0.5$ 、 $b = 0$ 、 $c = 2$ を代入して生存率を計算した。この結果を Fig. 1 に示す。

V. 考 察

我々は、加温における細胞の致死モデルとして熱による細胞の損傷およびその損傷からの修復を考慮したモデルを提案した。細胞を 42.5°C 以下で加温すると生存率は加温初期では肩を持った指数関数で低下するが、加温時間が長くなると生存率は指数関数的に低下しなくなり、いわゆる熱耐性が発現する(1)。

Fig. 1 に見られるように、このモデルでは加温時間と共に生存率は低下する。その低下の度合いは温度が上昇するに従い大きくなる。 42.5°C 以上では損傷の修復がある場合と無い場合とではあまり差は見られない。 42.5°C 以下では加温時間が長くなると熱耐性の誘導がみられる。温度が低下するに従い実線と破線の差は大きくなる。熱によって細胞が stimulate されると、stimulate されていない場合と同じ時間加温をおこなっても修復時間が短縮しているので損傷の蓄積が少なく、それ故致死効果は stimulate されていない場合に比較して低下する。このことは熱耐性の誘導を意味する。

Fig. 1 Surviving fractions with thermotolerance when the cells are heated at the temperatures indicated. The broken lines show the surviving fractions when thermotolerance is not included.

このように細胞の熱による致死効果は熱における hit theory と損傷の修復という概念で説明できることを示した。損傷修復時間の加温温度・加温時間依存性については、損傷の回数、熱以外の環境の影響を含めたより詳しい議論が必要と考える。

謝 辞

本論文をまとめるにあたり、Dr. Jeffrey W. Hand, MRC Cyclotron Unit Hammersmith Hospital, U. K. に貴重な助言を頂きました。また島根医科大学放射線医学教室・山崎月子、日下まり両氏の御協力を得ました。ここに謝意を表します。本研究は一部昭和 60 年度文部省科学研究費がん特別研究II (課題番号 61870044) 及び厚生省がん研究助成金 (課題番号 63-2) の援助によった。

文 献

- 1) Dewey, W. C., Hopwood, L. E., Sapareto, S. A. and Gerweck, L. E.: Cellular responses to combinations of hyperthermia and radiation. Radiology 123: 463-474, 1977.
- 2) 加納永一, 新田和美, 古川雅代, 坪内進, 近藤 隆: 癌の温熱療法: 細胞レベル, 柄川順編, 癌・温熱療法. 105-127, 1987. 篠原出版, 東京.
- 3) Jung, H.: A generalized concept for cell killing by heat. Radiat. Res. 106:56-72, 1986.
- 4) Kato, H., Furukawa, M. and Ishida, T.: Physical analysis of heat-induced cellular inactivation. Jpn. J. Hyperthermic Oncol. 3:357-360, 1987.