

薬 学 雑 誌
YAKUGAKU ZASSHI
105 (4) 407-410 (1985)

ペブレオマイシンのマウスに対する放射線増感効果

高橋雅行, 太田節子, 篠田雅人*

星薬科大学

Radiosensitizing Effect of Pepleomycin on Mouse

MASAYUKI TAKAHASHI, SETSUKO OHTA, and MASATO SHINODA*

Hoshi College of Pharmacy, 2-4-41, Ebara, Shinagawa-ku, Tokyo, 142, Japan

(Received September 12, 1984)

Radiosensitizing effect of pepleomycin (PEP), an antitumor drug derived from bleomycin, was examined in mouse. PEP was intraperitoneally injected into ICR male mice. Mice irradiated with 70 kVp of soft X-ray were observed for 30 d. By comparing the mice survival time of the control group with that of PEP-treated group, radiosensitizing effect of PEP was detected as a shortening of the survival time. The enhancement ratio (ER) calculated by mice survival time was 1.29. PEP was most effective when injected 1 h before the irradiation, and the effect was dose dependently inhibited by a radio-protector, cysteamine (MEA).

Keywords—antitumor drug; cysteamine; enhancement ratio; pepleomycin; radio-sensitizer; X-irradiation

ペブレオマイシン (pepleomycin sulfate; PEP と略す) は、ブレオマイシン (bleomycin; BLM と略す) の副作用軽減、制癌活性の増大などの目的で作られた BLM 誘導体であり、BLM に比べて実験的あるいは臨床的に、肺毒性が低く、制癌活性が高いことが認められている。^{1,2)} PEP は臨床的には、扁平上皮癌、頭頸部悪性腫瘍などの治療に用いられており、³⁾ 放射線と併用した場合には高分化型扁平上皮癌に有効であることが明らかにされている。⁴⁾

著者らは、マウスと軟 X 線を用いた放射線防護薬の検定法⁵⁾を応用して、PEP の放射線増感効果 (以下増感効果と略す) について検討した。

実 験 の 部

材料及び実験方法

実験動物 日本生物材料センターより 5 週齢の ICR 系雄マウスを購入し、繁殖用固型飼料で 1 週間予備飼育後、1 群 10 匹として使用した。

使用薬物 PEP: 日本化薬株式会社より提供を受けた硫酸ペブレオマイシンの原末 (NK-631, -Cu) を使用した。

システアミン (2-mercaptoethylamine hydrochloride, MEA と略す): 東京化成工業株式会社の特級試薬を使用した。

以上の薬物は、投与直前に生理食塩水に溶解し、腹腔内投与した。

X 線照射 X 線発生装置として、SOFTEX CMBW 特型を用い、70 kVp, 10 mA, 距離 40 cm, アクリルフィルター 10 mm, 線量率 70 R/min (ビクトリン 550 型線量計使用), の条件で、1600 R または 1400 R の照射を行った。マウスは 10 匹ずつ、表面を 1 cm 間隔の極細ステンレス線の金網で覆った照射用固定器に入れ、回転照射台上に載せ背部より全身照射した。この研究に使用した X 線は、長波長の軟 X 線を含むために relative biological effectiveness が小さく、200 kVp の硬い X 線の約 1/3 と考えられるが、正確には求められていない。したがって新しい吸収線量の単位である Gy では表示し得ないので、照射線量を従来通りの R で表示した。

マウス生存期間の算出 篠田らの方法⁶⁾に準拠した。照射後 30 日間マウスを観察し、各群のマウスの生存日

数を求めた。各群の生存期間について、Smirnoff の棄却検定を行った後、照射のみの対照群と、薬物処置群の生存期間について、t 検定法を用いて有意差検定を行った。

実 験 結 果

I PEP 及び MEA のマウスに対する毒性

PEP 20 mg/kg, あるいは 40 mg/kg, または MEA 114 mg/kg, あるいは 228 mg/kg を投与し、投与後 30 日間マウスを観察した結果、全例生存した。

II PEP の増感効果の測定

1) 最適投与時期の検討 PEP 20 mg/kg を X 線照射前 24, 4, 2, 1 h, 30, 5 min にそれぞれ投与し、X 線 1600R を照射した結果、照射のみの対照群に対して、照射前 24 h 投与群を除き、有意な生存期間の短縮効果が認められ、照射前 1 h 投与によりその増感効果は最大であった (Table I)。

2) 投与量と増感効果 PEP 40—1.25 mg/kg の範囲の 6 用量を、それぞれ照射前 1 h に投与し、X 線 1600 R を照射した結果、投与量と生存期間の間に直線関係が成り立ち、10 mg/kg 以上の投与量で有意な増感効果が認められた (Table II)。

3) Enhancement Ratio (ER) の算出 PEP 20 mg/kg を照射前 1 h に投与し、X 線 1200—2000 R を照射して ER を算出した結果、ER=1.29 であった (Fig. 1)。

III PEP の増感効果に及ぼす MEA の影響

PEP 40 mg/kg を照射前 1 h に投与した後、照射前 5 min に MEA 228, 114, 57 mg/kg をそれぞれ投与し、X 線 1400 R 照射して、PEP と MEA の相互作用を検討した。PEP の増感効果は、MEA の投与量に依存して抑制を受け、MEA 228 mg/kg 併用群は、PEP 40 mg/kg 投与による増感効果を有意に抑制した (Table III)。

TABLE I. Effect of Injection Time of PEP on the Survival of X-Irradiated Mice

	Injection time of PEP								Control [X-ray only]
	Before-irradiation						After-irradiation		
	24 h	4 h	2 h	1 h	30 min	5 min	5 min	30 min	
Survivals (%)	55.6	10.0	0	0	0	0	10.0	0	20.0
M.S.D. ^{a)}	23.2	11.6 ^{b)}	6.7 ^{c)}	6.2 ^{c)}	7.6 ^{c)}	8.5 ^{c)}	14.1 ^{b)}	13.0 ^{b)}	18.8
S.E.	2.7	2.8	0.8	0.6	0.8	0.9	1.6	1.3	1.6

Mice were *i. p.* injected with 20 mg/kg of PEP before or after the irradiation with 1600R of X-ray. The control group was irradiated without injection of PEP.

^{a)} Mean survival days of mice.

Significantly different from the control; ^{b)} $p < 0.05$, ^{c)} $p < 0.01$, $n = 9$ or 10 .

Table II. Dose-Response of PEP on the Survival Time of X-Irradiated Mice

	PEP dose (mg/kg)						
	0	1.25	2.5	5.0	10	20	40
Survivals (%)	0	30	0	10	0	0	0
M.S.D.	14.8	16.8	10.2	14.7	9.5 ^{a)}	7.6 ^{b)}	5.3 ^{b)}
S.E.	2.2	3.1	0.4	2.4	1.1	0.8	0.4

Mice were injected with PEP before 1 h of the irradiation with 1600R of X-ray.

Significantly different from control; ^{a)} $p < 0.05$, ^{b)} $p < 0.01$, $n = 10$.

TABLE III. Competitive Effect of PEP and MEA on the Survival Time of X-Irradiated Mice

MEA dose (mg/kg)	PEP dose (mg/kg)	
	0	40
0	23.6±2.0	6.8±0.8
57	23.1±2.1	7.8±2.1
114	25.7±1.6	13.5±3.2
228	27.4±1.7	19.9±3.5 ^{a)}

Mice were injected with PEP before 1 h of the 1400R of X-ray and injected with MEA before 5 min of the irradiation. Survival time (M.S.D.±S.E.) are shown in this Table.

Significantly different from the control (the first data of the column); ^{a)} $p < 0.01$, $n = 10$.

考 察

本実験で用いた軟 X 線 1200—2000 R によるマウスの致死作用は、造血組織障害に基づく造血死あるいは骨髓死と呼ばれるものである。この範囲の致死線量の X 線を照射するマウスに、照射前に MEA を投与すると、致死率の減少、平均生存日数の延長という放射線防護作用が認められている。⁶⁻⁸⁾ Tabel I, II により、放射線防護薬の検定に用いる実験系において、X 線照射前の PEP 投与により、マウスの致死率の増大、平均生存日数の短縮が認められ、この効果は、PEP 投与のみによるマウスの致死が起こらないことより、PEP の増感効果といえる。また、この実験系が放射線増感剤の効力検定法の 1 つとなり得ることも示唆される。

一方、PEP の増感効果が MEA によって投与量依存的に抑制されたということは、MEA の作用機序である、酸素効果の抑制、フリーラジカルの捕獲、SH 基の保護、⁹⁾ を考えると、PEP の増感効果は、そのいずれかに関連した作用機序によると考えられる。

ま と め

- 1) マウスに PEP を投与後、軟 X 線を照射し、照射のみの対照群と PEP 処置群の生存期間を比較することにより、PEP の増感効果の測定ができた。
- 2) マウスの生存日数より算出された PEP 20 mg/kg の ER は 1.29 であった。
- 3) PEP の増感効果は、MEA によってその投与量依存的に抑制される。

謝辞 本研究に使用した PEP を提供された日本化薬株式会社薬品研究所に感謝します。

引 用 文 献

- 1) 海老原和雄, 浴本久雄, 一町田裕子, 安部史紀, 井上 博, 青柳祥子, 山下 巧, 小結明子, 高橋克俊, 岡 修, 松田 明, *Jpn. J. Antibiot.*, **31**, 872 (1978).
- 2) 草刈 潤, 佐藤良樹, 西条 茂, 富岡幸子, 河本和友, *Jpn. J. Antibiot.*, **31**, 659 (1978).
- 3) 川平清秀, 堂原義美, 杉原一正, 山田公一, 藤波好文, 朔 敬, 山下佐英, *Jpn. J. Antibiot.*, **32**, 138 (1979).
- 4) 村田邦彦, 渡辺 宏, 伊藤正博, 中島 格, 島谷陽一, 広戸幾一郎, 神宮賢一, 早瀬尚文, *Jpn. J. Antibiot.*, **32**, 509 (1979).

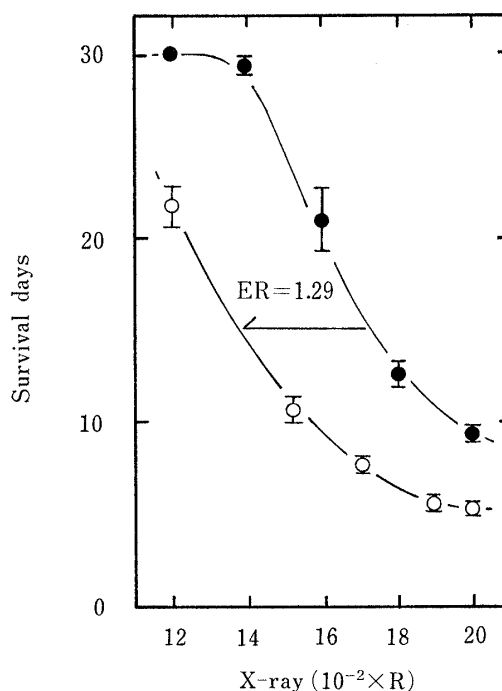


Fig. 1. Radiosensitizing Effect of PEP

Mice were injected with 20 mg/kg of PEP before 1h of the irradiation. Enhancement ratio (ER) was 1.29. No lethal effect has recognized by the injection of 20 or 40 mg/kg of PEP in unirradiated mice.

Control (X-ray only) —●—, PEP treated groups —○—.

-
- 5) 篠田雅人, 清水節子, 玉置文一, 赤星三彌, 薬誌, **88**, 1031 (1968).
 - 6) D. J. Mewissen, *Radiat. Res.*, **6**, 85 (1957).
 - 7) R. Rugh, J. Wolff, *Radiat. Res.*, **7**, 189 (1957).
 - 8) 篠田雅人, 岡 孝己, 後藤百子, 篠原直美, 玉置文一, 赤星三彌, 薬誌, **88**, 271, (1968).
 - 9) 菅原 努, 山田正篤, 江上信雄, 堀川正克, “放射線細胞生物学,” 朝倉書店, 東京, 1963, pp. 230—245.