

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 6 月 11 日現在

機関番号：31201

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21591605

研究課題名（和文）放射線増感剤ギメラシルを利用した、放射線増感のメカニズムの解明

研究課題名（英文） Studies on radiosensitization and underlying mechanisms of gimeracil

研究代表者

有賀 久哲（ARIGA HISANORI）

岩手医科大学・医学部・教授

研究者番号：30333818

研究成果の概要（和文）：ギメラシルは抗腫瘍薬に配合された 5FU の代謝阻害剤だが、単剤でも放射線増感作用が認められた。ギメラシルの増感活性は、細胞株によって、また腫瘍組織と正常組織の間で異なっており、放射線誘発 DNA 損傷の修復を阻害している可能性が考えられた。特に増殖細胞に特異的な相同組み替えを阻害することで、腫瘍細胞に選択的な増感効果が期待される。現在、東北大学臨床試験推進センターを活用した医師主導治験の登録準備中である。

研究成果の概要（英文）：Gimeracil has been used clinically as a competitive inhibitor of dihydropyrimidine dehydrogenase, which degrades drugs in the blood. We found that gimeracil had a radiosensitizing effect and that the sensitizing activity was different between cancer cells and normal tissues, and even between cancer cell lines. One of the mechanisms of radiosensitization may be inhibition of DNA repair process, especially homologous recombination, which is used predominantly in replicating cells after ionizing radiation. Currently we are preparing an investigator initiated phase I clinical trial on gimeracil in cooperation with the translational research center of Tohoku university hospital.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2009 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010 年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2011 年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,500,000	1,050,000	4,550,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学

キーワード：放射線、X線、癌、放射線治療、放射線増感剤

1. 研究開始当初の背景

（1）人口の高齢化が急速に進むわが国には、がん治療の需要が著しく増大している。医療技術の進歩・新規抗がん剤の開発等により、より強力な癌治療が試みられている分野

もあるが、高齢化し、合併症を有する頻度が高い患者集団に対して、侵襲的ながん治療の適応には限界がある。有効な集約的治療法が確立されているにもかかわらず、臨床的に標準治療を実施できない患者が増加している。

(2) 放射線治療は、外科的侵襲を伴うことなく強い局所的抗腫瘍効果を付与できるため、忍容性に劣る患者集団にも適応しやすい低侵襲ながん治療である。しかし腫瘍組織だけでなく正常組織にも放射線の影響が及ぶため、正常組織の耐用線量を考慮した治療制約が必要であり、すべての疾患で良好な治療成績が得られている訳ではない。近年、放射線治療と化学療法を同時併用する化学放射線療法の有効性が認められ、様々ながん種で治療成績の改善が得られている。その主メカニズムは抗癌剤の放射線増感効果によると考えられ、言い換えれば、放射線治療の効果を増感することで、局所制御が改善するだけでなく生存率も向上することが示されている。しかし、抗癌剤治療はそれ自体が全身的な強い副作用を伴うことが多く、化学放射線療法を実施できる患者は著しく制限されている。

(3) 超高齢化時代の放射線治療には、薬剤自体の毒性が極小であり、腫瘍組織の放射線感受性を強く増強しながら正常組織に対する増感効果は相対的に低く抑える(治療可能比を増大する)“真の放射線増感剤”の開発が求められ、その有用性は大変大きいと考えられる。我々は基礎研究から、経口抗悪性腫瘍剤ティーエスワンの含有成分、ギメラシル(5-chloro2,4-dihydropyridine; CDHP)に放射線増感効果を認めており、毒性が少ない新たな放射線増感剤としての可能性を検討してきた。

2. 研究の目的

CDHP と放射線の併用効果を基礎的・臨床的に検討し、放射線増感メカニズムを明らかにするとともに、新規の放射線増感剤としての有用性を決定する。

3. 研究の方法

(1) CDHPは既に臨床で使用されている経口フッ化ピリミジン系抗悪性腫瘍剤ティーエスワンの含有成分であり、主成分であるテガフル(5FUのプロドラッグ)20 mgに対しCDHP 5.8 mgが配合されている。体内の5FU異化代謝酵素ジヒドロピリミジンデヒドロゲナーゼの競合的阻害剤として、5FU濃度を上昇するために添加されており、CDHP自体は抗腫瘍活性を有していない。動物実験にて、生殖性試験、抗原性試験、変異原性試験にて有害作用は認められず、イヌの13週間連続投与の無毒性用量も125 mg/kg/day以上(体表面積換算で約2,500 mg/m²/day以上)であり、出現した症状も結晶物の尿中排泄に伴うものであった。CDHPに起因する死亡は認められず、安全性の非常に高い薬剤である。

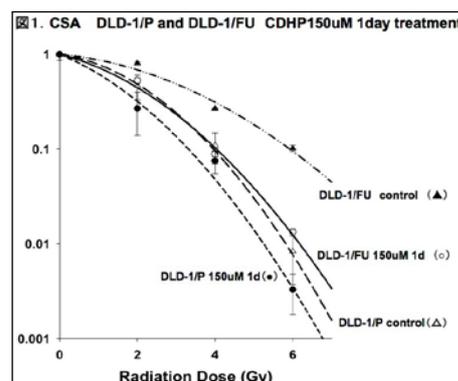
(2) これまでの基礎研究で、ヒト大腸がん、肺がん細胞におけるCDHPの放射線増感効果が確認されている。さらに性質・反応性が異なる細胞株を用いて、CDHPの放射線感受性の変化、各種遺伝子発現の比較等を行うことで、放射線増感効果のメカニズムを検討した。更に、マウス異種移植片モデルを用いて、腫瘍組織と正常組織の反応性の差違、種々の因子の影響等を検討した。

(3) 基礎研究の結果を踏まえ、放射線増感剤CDHPの臨床研究計画を立案し、実現可能性を検討した。可能と判断された場合は、各種審査を受け、東北大学臨床試験推進センター(TRセンター)を活用した治験体制を確立し、医薬品として承認取得・市販化を目的として医師主導治験を行う。

4. 研究成果

(1) 基礎的検討

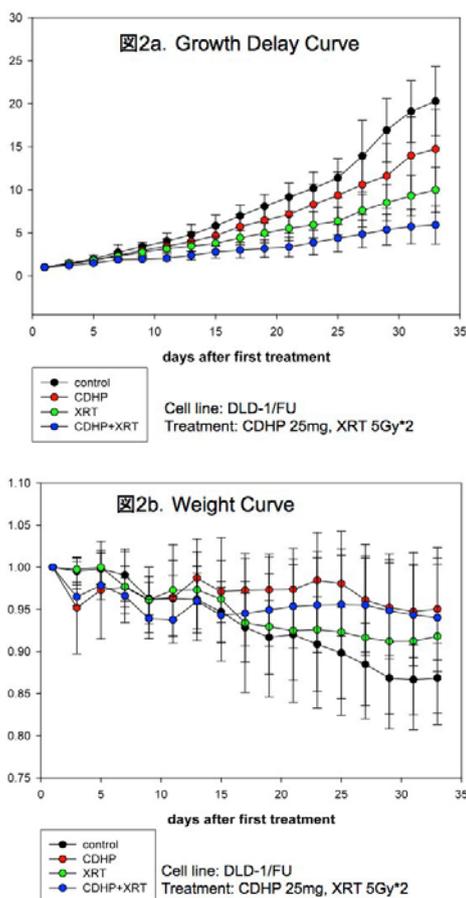
① ヒト大腸がん株(DLD-1/FU)を用いたクロン原生細胞性生存率測定法にて、CDHPは増感比1.87で放射線照射との相乗効果を示した(図1)。



しかし、親株であるDLD-1/Pの増感効果は少なく、細胞株によって増感程度に差があることが推測された。

② DLD-1/FUとDLD-1/Pとの各種遺伝子発現を比較するため、mRNAの相対発現比を測定した。複数の検体から平均の発現比を計算すると、CDHPによる増感効果が大きかったDLD-1/FUは親株のDLD-1/Pと比較すると、CDC2、ABCB1、NME1のmRNA相対発現比が増加しており、ITGA2、ITGAV、ITGB3、SERPINBは低下していた。細胞周期、細胞マトリックスなど、DNA修復に重要なmRNAに変動が認められており、放射線増感のメカニズムを更に検討する上で有効な方法と考えられた。また、CDHPの放射線増感効果の予測因子等に使える可能性も示唆された。

③ ヒト大腸がん細胞 (DLD-1/FU) のマウス異種移植片モデルによる成長遅延試験でも、CDHP は放射線の成長遅延効果を大きく増感した (図 2a)。



CDHP 単独でも、コントロール群と比べ、軽度ながら成長遅延があり、今後は CDHP 自体が有する抗腫瘍効果にも関心が持たれる。

④ 正常組織に対する放射線の増感効果を推測するために、マウスの体重変化 (図 2b)、X線皮膚障害スコア (図 3) を検討した。グラフの通り、CDHP と放射線を併用した群は、放射線単独群と比較しても逆に、体重減少、皮膚反応とも少ない傾向がみられた。腫瘍組織と正常組織との増感程度が大きく異なることが予想され (腫瘍組織 > 正常組織)、治療可能比を拡大する方向に作用する、安全性の高い放射線増感剤の候補と考えられた。

⑤ Takagi らは、CDHP が、放射線による DNA 二重鎖切断に対する相同組み替え (homologous recombination; HR) 修復を阻害することを報告した (Takagi, 2010)。HR による DNA 修復は、損傷部の鋳型 DNA として姉妹染色分体が必要なため、細胞周期において DNA 複製中か複製終了後の間 (S/G2 期) にある細胞のみに限られる。増殖能の高い腫瘍細胞

と異なり、正常細胞 (特に晩期反応型細胞) は G1/G0 期に留まって複製プロセスに進まない細胞の割合が高く、HR の阻害が DNA 修復に影響する可能性はより少ないと考えられる。CDHP が腫瘍組織と正常組織で異なる増感効果を呈することをよく説明するかもしれない。

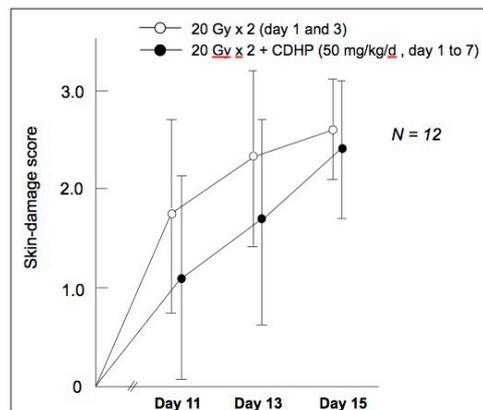


図3. 放射線皮膚障害に対するCDHPの影響(ヌードマウス)

(2) 臨床的検討

① CDHP は広く臨床で使われている薬剤であり、放射線の増感効果も悪性腫瘍組織に特異性が高いことが予測され、臨床的検討を開始するのに十分な安全性が確保されていると判断した。放射線治療との併用時における CDHP の推奨用量を決定することを目的に、第 I 相臨床研究計画を作成した。副次目的として、用量制限毒性の推定、有害事象及び副作用の種類、発生頻度及び程度、治療完遂性の検討を加えた。

② CDHP の投与は、放射線増感作用を最適化・均質化するために、放射線照射日に 1 日 1 回、照射前 3 時間以内に経口投与することとした。用量漸増試験における CDHP の投与量 (mg/body/day) は、下記の知見を元に、レベル 1 : 30 mg からレベル 4 : 240 mg までの 4 段階とした (表 1)。

- ・ティーエスワンとして、80 mg/m²/day の 4 週連続投与が臨床で広く使われており (100 mg/body/day, 体表面積 1.25~1.5 m²相当、ただし用量制限毒性は 5FU による)、ティーエスワンと放射線治療を同時併用する臨床研究も多数報告されている。そこに含まれる CDHP 量、約 30 mg/body/day は、多数のヒトにより臨床的安全性が確認されている投与量と考えられる。
- ・自験例および大鵬薬品から提供を受けた実験データをまとめると、マウスを用いた放射線 / CDHP 併用実験にて、CDHP 2.5mg/kg/day から併用効果が見られ、25

mg/kg/dayで統計学的にも有意な増感効果が確認されている。これをヒトに換算すると、9.4 mg/body/day(7.5 mg/m²/day)～94 mg/body/day(75 mg/m²/day)と考えられた。

- 一般的な開始用量の基準としてマウスのLD10 (10%が死に至る量) の 1/10、イヌの最小毒性量の 1/3 等がある。CDHPに起因する死亡は認められておらず、イヌの 13 週間連続投与の無毒性用量 2500mg/m²/dayに基づくと、833 mg/m²/day(1041 mg/body/day)となる。放射線との併用であることを考慮しても、最大投与レベル用量が通常開始用量の 1/4 以下に設定され、臨床効果が期待される量の 2.5 倍まで検討できる増量計画は、安全性・有用性が高い試験デザインと考えられる。

表 1. CDHP 投与量

投与レベル	CDHP 投与 (mg/回)
1	30mg
2	60mg
3	120mg
4	240mg

③ 対象集団は、化学療法併用例を含めると CDHP 付加による有害事象・有害反応の発現がマスクされて安全性の評価が困難となると考え、放射線単独治療が適応となる進行悪性腫瘍患者とした。多くの癌腫で化学放射線療法が標準治療となっている現在、放射線単独治療の対象は a) 放射線感受性が高く放射線単独治療で治癒が期待される疾患、b) 化学放射線療法が標準治療として確立していない疾患、c) 化学放射線療法が標準療法だが、全身状態等から抗癌剤の併用が実施できない症例、d) 症状緩和を目的とした姑息的放射線治療症例と考えられる。a) のケースを「放射線単独治療で 9 割以上の局所制御が期待される疾患」と定義して対象からは除外すると、対象集団は放射線単独治療の治療成績が良好という訳では決してなく、むしろ延命ならびに QOL の改善を目的として放射線治療が実施される症例が主体となり、放射線増感剤の良い適応集団と考えられた。

④ 計画立案に際しては更に安全側に立つ考えから、副作用がより強い化学放射線療法の臨床研究に準じて、患者選択規準、治療変更規準、併用療法・支持療法、登録前後における評価項目・臨床検査・評価スケジュールを設定し、「放射線単独治療が適応となる進行悪性腫瘍に対する放射線治療とギメラシル (CDHP) との併用治療に関する安全性有効性確認試験」として、東北大学医学部・医学系

研究科の倫理委員会の審査を受け、承認を得た。

⑤ 医師主導治験の実施に向けて、東北大学 TR センターにシース登録を申請し、以後、TR センター、大鵬薬品と共同で、治験の内容・実施の具体化を図っている。治療有効性については当初参考評価程度に考えていたが、今後の開発を継続するか否かを判断するための目安として目的に加えた方が良いという調整を受けたため、臨床試験実施計画書を修正した。具体的には、対象疾患を食道癌一疾患に絞り、副次目的ではあるが、治療の有効性評価項目を客観性の高いものに拡充し、CDHP 併用放射線治療の効果を従来の治療成績と比較しやすいものとした。一方、大鵬薬品と CDHP 単剤を薬剤として供給を受ける契約を結び、現在製剤化が進められている。

研究期間中の治験開始は東日本大震災の影響などもあり実現できなかったが、大鵬薬品での製剤化が終わり次第、医師主導治験として症例登録開始予定である。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕 (計 0 件)

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 0 件)

〔その他〕

今後、東北大学病院放射線治療科のホームページに、研究概要を掲載予定である。

6. 研究組織

(1) 研究代表者

有賀 久哲 (ARIGA HISANORI)
岩手医科大学・放射線医学講座・教授
研究者番号：30333818

(2) 研究分担者

神宮 啓一 (JINGU KEIICHI)
東北大学・大学院放射線腫瘍学講座・教授
研究者番号：00451592

仲田 栄子 (NAKATA EIKO)
東北大学・保健学専攻・助教
研究者番号：60375201
(H21～H22)