

## 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 5 月 14 日現在

機関番号：20101

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22791208

研究課題名（和文） 新しい三者併用療法の開発～放射線治療＋温熱療法＋増感剤～

研究課題名（英文） Studies about the combination of radiotherapy, hyperthermia, and a radiosensitizer

研究代表者 高木 克（TAKAGI MASARU）

札幌医科大学・医学部・特任助教

研究者番号：10404716

研究成果の概要（和文）：

ギメラシルは、経口フルオロピリミジン誘導体 S-1 の 1 成分である。ギメラシルは、カンプトテシン、5-FU、ヒドロキシウレアの抗癌効果を有意に増強した。また、ギメラシル＋カンプトテシン、ギメラシル＋5-FU での組み合わせで、相加的な放射線増感効果が得られた。また、ギメラシルは、また、42度以上の温熱感受性を増感した。放射線治療とギメラシルと 42度以上の温熱の併用は、ギメラシル単独や温熱単独の放射線治療との併用よりも、より効果的に、放射線増感した。

研究成果の概要（英文）：

Gimeracil is a component of TS-1, an anti-cancer drug. Gimeracil enhanced cell-killing effects of camptothecin (CPT), 5-Fluorouracil (5-FU), and hydroxyurea. Combination of Gimeracil and CPT or 5-FU sensitized radiation more effectively than each modality alone. Gimeracil also enhanced heat sensitivity at 42°C or more. Combination of Gimeracil and heat sensitized radiation more than each modality alone did.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,800,000	540,000	2,340,000
2011 年度	1,300,000	390,000	1,690,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：医歯薬学

科研費の分科・細目：内科系臨床医学・放射線科学

キーワード：放射線治療生物学

## 1. 研究開始当初の背景

ギメラシルは、抗癌剤 TS-1 の一成分であり、肝臓内や腫瘍内での 5-FU の分解を阻害し、血中 5-FU 濃度を高値に保つ作用を持つが、また、ギメラシル自体が放射線増感効果を持つ。我々のこれまでの研究により、ギメラシルの放射線増感効果は、DNA 二重鎖切断の相同組換え修復を部分的に阻害することによることが明らかになった。

一方、癌の温熱療法（ハイパーサーミア）は、

体内のがん組織を暖める治療法である。温熱の作用の一つは、温熱により癌細胞を死滅させること、もう一つは放射線や抗癌剤といった既存の治療の効果を増強することである。癌細胞の多くは、低栄養、低酸素状態で酸性に傾いており、温熱療法が効きやすい条件下にある。近年の臨床試験では、放射線治療と温熱療法を併用することにより、難治性腫瘍の治療効果が高まることが示されている。温熱療法と放射線の併用は、個々の処置によ

る致死効果を加えただけでは説明しえない、より大きな致死効果をもたらす。すなわち、2つの治療法の相互作用は相乗的 synergistic あるいは付加作用以上 supra-additive である。この相互作用については培養や実験動物系で研究されている。また Yin, H. L.らは、温熱による放射線増感効果は相同組み替え修復を阻害することによる事を示唆した (Radiation Research 162, 433-441, 2004.)。

以上より

- ・ギメラシルは DNA 二重鎖切断の2つの修復経路のうち、相同組み替え修復を阻害することにより放射線増感効果が生じる。

- ・温熱療法の放射線増感効果は、少なくとも一部は相同組み替え修復を阻害することによる事が推察されている。

従って、ギメラシルは (1) 放射線増感効果を持つとともに、(2) 温熱による放射線増感効果の増強を持つことが予想される。よって、放射線治療+温熱療法にギメラシルを加えることで、放射線増感と温熱増感というさらなる抗腫瘍効果を持つ、新たな三者併用療法の確立を目指す事が今回の研究の主旨である。

## 2. 研究の目的

本研究では、現在、実臨床で使用されている抗がん剤 TS-1 の一成分であるギメラシルの温熱療法感受性に対する増感効果及び抗癌剤に対する増感効果を検討する。また、ギメラシル+抗癌剤、ギメラシル+温熱療法の組み合わせの、放射線増感効果を検討する。

## 3. 研究の方法

温熱療法や抗癌剤の殺細胞効果については、コロニーアッセイ法を使用して測定した。温熱療法や抗癌剤添加、あるいは、電離放射線を照射すると、培養皿に撒かれた細胞株が増殖能を失い、コロニー形成数が減少する。個々の照射細胞が最終的に無限増殖能を回復し、コロニー形成ができるか否かにより、各治療法の効果を判定した。

温熱療法の実験については以下のように行った。DLD1 細胞 (ヒト大腸癌細胞) を使用した。温熱、放射線照射の処理後 DLD1 細胞の生存率をコロニー形成能で決定した。(a) 温熱療法の加温温度を 41~44℃、加温時間を 0~60 分と変化させ、各温度にてギメラシルの温熱増感効果がどのように異なるかを検討した。

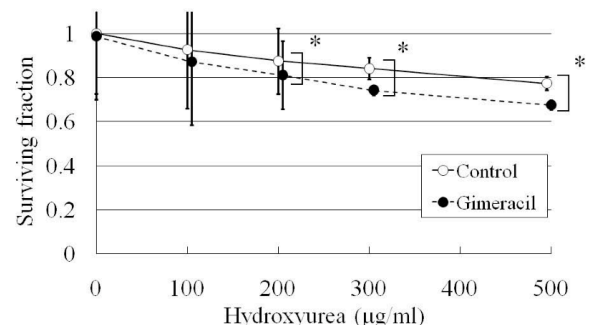
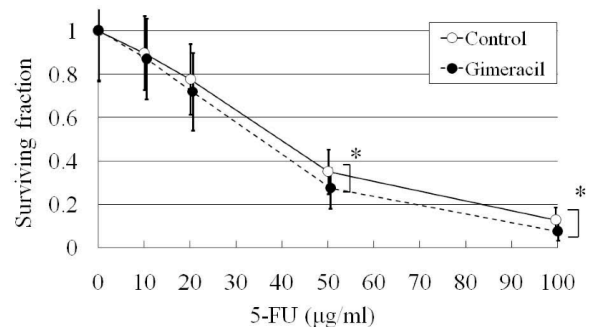
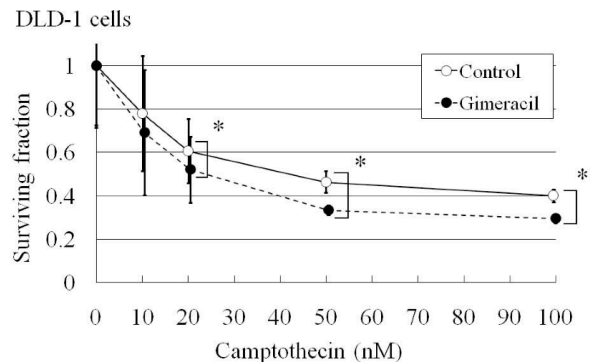
(b) 温熱療法の加温時間を 30 分に固定、温度を 41~44℃ と変化させ、加温後の放射線線量を 0, 2, 4, 6Gy と変化させて照射し、加温+放射線照射に対するギメラシルの増感効果がどのように異なるのかを検討した。

また、ギメラシルの抗癌剤の増感効果につい

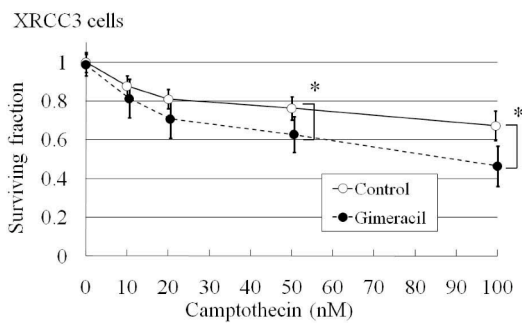
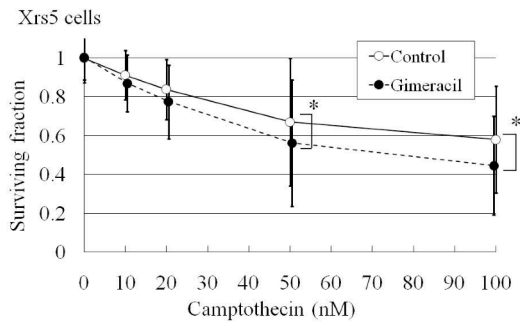
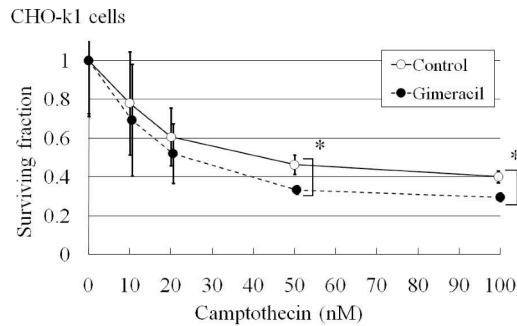
ては、以下のように施行した。DLD1 細胞 (ヒト大腸癌細胞)、CHO-k1 細胞、Xrs5 細胞、XRCC3 細胞を使用した。Xrs5 細胞は、DNA 2 重鎖切断修復における非相同末端修復が欠損しており、親細胞は CHO-k1 細胞である。XRCC3 細胞は、DNA 2 重鎖切断修復における相同組換え修復が欠損しているげっ歯類の細胞である。様々な濃度の抗癌剤 (カンプトテシン、5-FU、ヒドロキシウレア)、放射線照射の処理後、細胞の生存率をコロニー形成能で決定した。

## 4. 研究成果

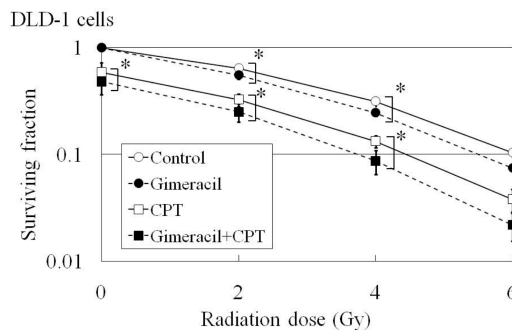
ギメラシルは、抗癌剤であるカンプトテシン、5-FU、ヒドロキシウレアの DLD1 細胞 (大腸癌細胞) に対する殺細胞効果を有意に増強した。



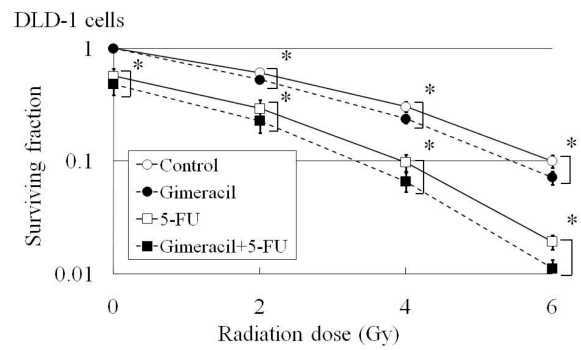
また、ギメラシルのキャンプトテシン、5-FUに対する増感効果は、CHO-k1細胞、Xrs5細胞、XRCC3細胞でもみられたが、その増感の程度は3細胞間で差がみられなかった。



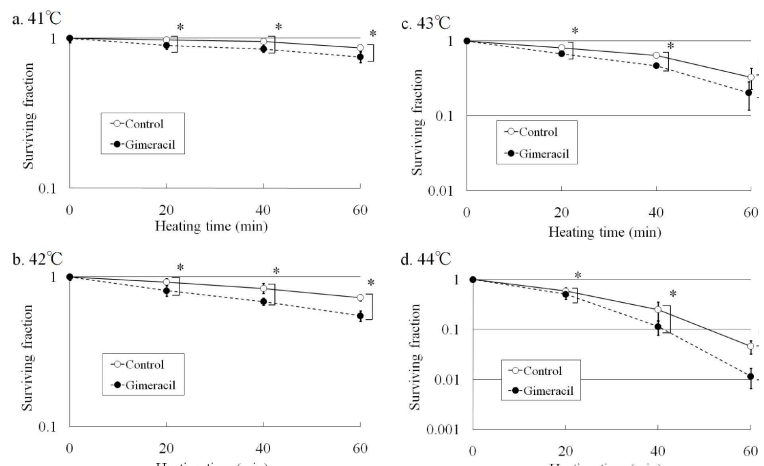
また、ギメラシル+キャンプトテシン、ギメラシル+5-FUでの組み合わせでの放射線増感効果を検討したが、相加的な放射線増感効果がみられ、いずれの組み合わせでも、1.3から1.4



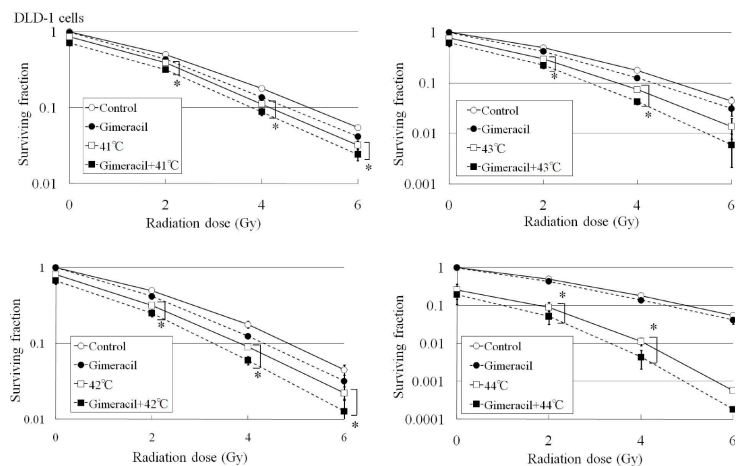
程度の増感率が得られた。



ギメラシルは、また、42度以上の温熱感受性を増感した。ギメラシルの温熱感受性の増感の程度は、温熱の温度があがるほど、大きくなった。



放射線治療と、ギメラシルと42度以上の温熱の併用は、ギメラシル単独や温熱単独の放射線治療との併用よりも、より効果的に、放



射線増感した。

ギメラシルは、抗癌剤カンプトテシン、5-FU、ヒドロキシウレアの感受性を増感する。放射線治療と併用すると、ギメラシル+カンプトテシン、ギメラシル+5-FUの組み合わせで、大きな増感効果が得られた。

Table 1 Enhancement Ratio			
Tabelle 1 Eine Rate der Erhöhung			
		Enhancement Ratio	
		D <sub>37</sub>	D <sub>10</sub>
Control			
Gimeracil		1.16	1.1
5-FU		1.28	1.27
5-FU+Gimeracil		1.4	1.37
CPT		1.2	1.13
CPT+Gimeracil		1.32	1.23
Heat	41°C	1.15	1.11
	42°C	1.29	1.16
	43°C	1.29	1.13
	44°C	1.36	1.52
Heat+Gimeracil	41°C	1.17	1.13
	42°C	1.38	1.25
	43°C	1.41	1.23
	44°C	1.69	1.75
5-FU: 30µg/ml 6hr, CPT: 20nM 6hr			
Heat 41-44°C 30min			

ギメラシルの抗癌剤増感効果のメカニズムは、放射線増感効果のメカニズムと異なる可能性がある。なぜなら、CHO-k1細胞、Xrs5細胞、XRCC3細胞の抗癌剤の抗癌効果を同程度に増感するからである。ちなみに、ギメラシルの放射線増感効果は、DNA 2重鎖切断の相同組み換え修復を阻害することにとるので、相同組み換え修復が欠損しているXRCC3細胞ではみられない。ギメラシルは、温熱療法の感受性を増感する。今後は、放射線治療増感法として、ギメラシルと温熱療法のより有効な併用法を探ることと、ギメラシルの温熱療法の増感の分子メカニズムを調べることを予定している。

#### 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3件)

- ① Takagi M, Sakata K, Someya M, Matsumoto Y, Tauchi H, Hareyama M, Fukushima M. The combination of hyperthermia or chemotherapy with Gimeracil for effective radiosensitization. Strahlenther Onkol 2012; 査読有、188:255-261.

- ② Sakata K, Someya M, Matsumoto Y, Tauchi H, Kai M, Toyota M, Takagi M, Hareyama M, Fukushima M. Gimeracil, an inhibitor of dihydropyrimidine dehydrogenase, inhibits the early step in homologous recombination. Cancer Sci 2011; 査読有、102(9):1712-1716.

- ③ Takagi M, Sakata K, Someya M, Tauchi H, Iijima K, Matsumoto Y, Torigoe T, Takahashi A, Hareyama M, Fukushima M. Gimeracil sensitizes cell to radiation via inhibition of homologous recombination. Radiother Oncol 2010; 査読有、96:259-266.

[学会発表] (計1件)

- ① 坂田耕一、DNA 2重鎖切断修復と放射線増感、第23回日本放射線腫瘍学会、2011年4月9日、横浜。

[その他]

ホームページ等

#### 6. 研究組織

##### (1) 研究代表者

高木 克 (TAKAGI MASARU)

札幌医科大学・医学部・特任助教

研究者番号：10404716