

# 放射線増感剤研究開発史

## History of Research and Development of Radiosensitizers

和田 武

### 一 はじめに

近年、癌は重要な社会問題の一つとなっており、制癌あるいは抗癌のための様々な治療剤の研究開発がなされつつある。本稿で述べる放射線増感剤は生物細胞の放射線感受性を高める作用をする物質で、癌の放射線治療を効果的に実施するために利用し得るものとして注目されている。

さて、現在、世界の多くの国で癌による死亡が増大しているが、日本においても癌死は経年的に増大している。最近の厚生省の発表によれば、昭和55年度の癌による死亡率は人口10万人当り139.1で、死亡率第1位の脳卒中の139.7にほぼ等しく、今年度には昭和28年<sup>(1)</sup>以来の死亡率2位から1位になることが確実視されるに至っている。

癌の克服に向けて、今日まで、癌治療や予防、癌の本質解明のために膨大な研究が積み重ねられてきた。現在では、癌の主な治療法として、外科療法、放射線療法、ホルモン療法、化学療法および免疫療法が実施されているが、世界の多くの工業国では癌患者の約半数は放射線治療を受けており、放射線治療の重要性は極めて高い。しかし、放射線治療にも改善されるべき問題がある。問題の本質は放射線が癌細胞だけでなく正常細胞に対しても損傷を与えることにある。これに加えて、不都合なことは癌細胞は正常細胞よりも放射線抵抗性であることが多いことである。理想的な放射線治療は、正常細胞ひいては生物個体にもたらず障害をできる限り少なくし、癌細胞をできる限り低線量の放射線で致死させることである。そのために正常細胞を放射線から防護する方法と癌細胞の放射線感受性を高める方法が追求されている。このような目的のために、

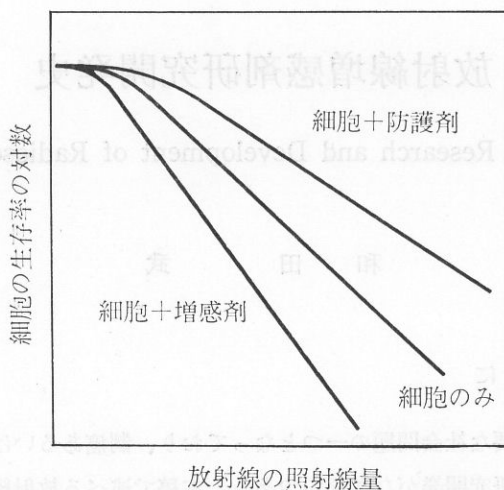


図 1 細胞の放射線感受性に対する増感剤と防護剤の影響を示す線量—生存率曲線

照射装置の改良や照射方法の改善以外に、細胞の放射線感受性に影響を及ぼす因子についての研究がなされてきた。このような因子として、細胞周期や温度、そして種々の物質が存在する。細胞の放射線感受性を修飾する物質のうち、感受性を向上させるように作用する物質を放射線増感剤、逆に感受性を低下させる物質を放射線防護剤と呼んでいる。これらの物質の効果を放射線照射線量—細胞生存率曲線で示すと図1のようになる。

正常細胞に害を与えず癌細胞を選択的に増感するような物質の開発が放射線増感剤研究の目的である。この研究目的を達成するには放射線医学だけでなく、放射線生物学、放射線物理学、放射線化学、薬学、合成化学などの多くの分野における研究が必要である。異なる分野の研究者がそれぞれの専門の立場からある研究対象に対してアプローチする場合、その共通の基盤として研究の歴史的展開過程を認識した上で現段階の問題点を把握することが研究の正しい迅速な展開を可能にするためにも重要なことである。放射線増感剤研究に関しても、その展開の方向を検討する上で研究史のまとめと考察の必要性があるが、現時点ではそのような観点での論述を筆者は知らない。

本稿では、放射線増感剤研究の歴史を、この研究の発展にとって重要な増感

剤の検索と増感作用機構の解明に関わる放射線生物学と放射線化学研究を中心に整理し、考察する。初めに、癌の放射線治療の初期の歴史を概観した後に、最初に放射線増感物質であることが見出された酸素の発見と初期の増感剤研究について述べ、次いで一時期有望な増感剤として注目を浴びたハロゲン化ピリミジン誘導体に関する研究、さらに今日最も重要視されている親電子性増感剤について1960年代から現在までの研究を辿り、最後に最近の新しい放射線増感剤研究について論述する。

なお、放射線増感剤研究の歴史的検討がなされたものはないが、今日的課題<sup>(9)</sup>についての菅原らの綜説を参考のために挙げておきたい。また、放射線治療の全般的問題に関しては、昨年までに10回に亘って開催された放射線による制癌シンポジウムの内容が「癌の臨床」誌に順次掲載されているので参考にすることができる。

(註)

- (1) 癌統計白書 癌の臨床 27 393(1981)
- (2) The United Nations Scientific Committee on the Effects of Atomic Radiation : UNSCEAR, 1972年報告書
- (3) 菅原、癌の臨床 26 1498(1980)  
菅原、中津川、ibid., 24 911(1978)  
菅原、中津川、宮越、加納、阿部、陶山、ibid., 23 1142(1977)

## 二 癌放射線治療の歴史

放射線増感剤に関する研究の歴史を辿る前に、その前提となる癌の放射線治療の歴史を簡単に振り返っておく必要がある。<sup>(1)</sup>

放射線による癌治療は、W.K. Röntgen の X 線の発見(1895年11月)によってその可能性が開かれ、それから3年後の Curie 夫妻(P. and M. Curie)によるラジウムの放射能の発見<sup>(2)(3)</sup>によって、さらにその展開の可能性が拡大されたと言える。これらの発見は1896年の H. Becquerel によるウランの放射能の発見<sup>(3)</sup>とともに、今世紀の原子物理学の華々しい展開への道を開いただけではなく、

すでに Röntgen が彼の論文「新しい光線について」において明らかにした X 線の透過能力を生かした技術的応用として、医学分野でその診断用価値が高く評価された。T. A. Edison は1896年はじめに、人間の体内を透視できる X 線透視装置を作製し、その装置はすでにその年には商業的に販売された。<sup>(4)</sup>

こうして X 線の発見後しばらくは、X 線は主として診断用に使用されたが、治療への試みは驚くべきことに発見の 2 カ月後にすでに行なわれている。しかも、治療への応用の契機は、X 線研究者が放射線障害を受けていたという事実であった。<sup>(5)</sup> E. H. Grubbe は X 線の研究中に X 線火傷を受け、X 線が人体に傷害を与えることが経験的に明らかとなったが、Grubbe の治療を担当したハーネマン医科大学の J. E. Glimmer は X 線が細胞を壊死に至らしめる効果があることを知り、癌治療用に X 線を用いる提案を行なったのである。かくして、Grubbe のもとで、1896年1月29日、放射線の癌治療への応用が初めて、ある婦人の胸部癌に対して試みられたのである。しかし、これは成功とは言えなかった。

さて、癌の X 線治療が初めて成功したのは1899年とされており、老婦人の鼻に生じた皮膚癌の治療であった。その後、1913年にクーリッジ管の発明によって皮膚癌の治療成績が、比較的良好になったが、人体内部の癌治療が効果的になされるようになるには、ラジウムの利用に関する技術的向上や透過力の大きい高電圧の治療用 X 線装置の開発が行なわれた1920年代以後のことである。さらに、放射線障害を可能な限り抑制し、治療効果を高めるための照射法として、遅延分割照射法、集光照射法、運動照射法が1940年代までに完成され、治療可能な癌の種類は拡大した。1950年代には  $^{60}\text{Co}$  や  $^{137}\text{Cs}$  の  $\gamma$  線や電子線加速器の電子線の利用が開始され、治療成績は次第に向上している。

現在日本では子宮癌、舌癌、喉頭癌、悪性リンパ腫などは、放射線治療が第一順位の治療法であり、他の大多数の癌でも外科治療と組み合わせて用いられている。

このように放射線治療や他の治療法が、従来よりも著しく向上したとはいえ、癌はまだ完全に征服されていない。それどころか、癌の本質の解明が進めば進むほど、癌治療の困難さが明らかになっていると言っても過言ではない。癌細胞は正常細胞とは異なる極めて異常な細胞である。核は通常の細胞のそれより

大きく不規則である。そして、癌細胞の特徴的な性質として、正常細胞で起こる増殖の接触阻止が癌細胞では起こらず増殖し続けることである。この接触阻止能を失った突然変異細胞が増殖し続けると、腫瘍は大きくなり個体そのものを死に至らしめる。

放射線治療において重要な問題は、腫瘍の増大の結果、毛細血管から遠く離れた細胞が生ずることである。これらの細胞は酸素の供給が実質的にできなくなり、低酸素性細胞となっている。ところが、この低酸素性細胞は放射線感受性が低く、放射線治療を施しても生き残りやすく、一見治癒したように見える場合でも再発し個体を死亡に至らしめることが多いと言われる。したがって、癌の放射線治療においては癌細胞、その中でも低酸素性癌細胞の放射線感受性をいかにして高めるかが放射線治療の効果をあげる上での鍵である。放射線増感剤は、この低酸素性細胞の放射線感受性を選択的に高めるようなものであることが望ましい。このような目的を達成するために、今日までに様々な検討がなされてきた。その一つが、放射線増感剤に関する研究である。

(註)

- (1) J. Schubert and R.E. Lapp, "Radiation. What It Is and How It Affects You," The Viking Press Inc., New York (1975)
- (2) H. Becquerel and P. Curie, Compt. Rend. Acad. Sci., 132 1289 (1901)
- (3) E. Curie, "Madame Curie," Doubleday, New York (1949)
- (4) E.G. Williams and S.C. Ingraham, Public Health Reports, 71 173 (1956)
- (5) E.H. Grubbe, "X-Ray Treatment, Its Origin, Birth and Early History," Bruce Pub. Co., Milwaukee (1949)

### 三 酸素効果の発見と初期の放射線増感剤研究

生体への放射線作用に対する酸素の影響は1909年、Schwarz によって皮膚癌の治療中に発見された。彼は、人の皮膚を圧迫して血行を妨げた状態でX線照射した場合、通常の状態では照射した場合より皮膚が受けるX線障害が軽減されたと述べている。これは血行が妨げられた部分の皮膚細胞が低酸素性細胞となったことによるもので、酸素が不足すると放射線感受性が低下することを示

す。

この現象は、1921年 Holthusen によって、カイチュウ卵を用いた実験によって確かめられた。カイチュウ卵を酸素下と無酸素下で放射線照射した場合、酸素下では無酸素下の約3倍の放射線効果を示したのである。

このような現象の発見があったにもかかわらず、放射線治療に関連づけて酸素効果の研究が1950年代までなされなかったのは、癌細胞と正常細胞との相違が明らかでなかったことと、生物に対する放射線作用が生体内分子の放射線化学反応に基づくものであるという分子生物学の発展を基礎とする理解がなされていなかったためである。

1930年、Warburg<sup>(1)</sup> は動物組織中での酸素の最大の拡散距離は平均  $157\mu$  であると言っているが、1955年 Thomlinson と Gray<sup>(2)</sup> は腫瘍の内部で毛細血管との距離が  $180\mu$  以上の細胞は壊死に至ることを証明した。したがって、腫瘍の表面から中心部に至るにつれて酸素圧は低下し、一定以上隔たれば無酸素に近い細胞が存在する。正常細胞では一般に、 $10\text{ mmHg}$  以上の酸素圧を有するが、癌細胞は  $10\text{ mmHg}$  以下のことが多い。1959年に発表された Hewitt<sup>(3)</sup> らの結果では、腫瘍の大きさにもよるが癌には1~10%の無酸素状態の細胞が含まれることが示された。

1951年に Hollaender<sup>(4)</sup> らは、ショウジョウバエのX線突然変異(伴性致死)率が、雰囲気(窒素と酸素の混合ガス)中の酸素濃度が20%以下では酸素濃度の影響を著しく受けることを見出した。

こうして、癌組織中には低酸素性細胞が多いという事実と酸素が生体の放射線感受性を高めるという事実が明らかになると、放射線による細胞致死効果への酸素の影響に対する興味が高まり、まず、細胞に対する放射線効果への酸素の影響が検討された。1952年に発表された Rambach<sup>(5)</sup>、Devik<sup>(6)</sup>、Read<sup>(7)</sup>、Trowell<sup>(8)</sup> の研究を始め、その後数多くの研究が発表された。これらの研究では、ほとんどの場合、酸素は放射線感受性を高めるように作用し、その酸素の増感率(酸素飽和下の放射線効果を無酸素下の放射線効果で割った値)は、低 LET 放射線では下等生物から高等動物の細胞に至るまで2~4の間にあることが明らかとなった。しかし、高 LET 放射線の場合は小さくなりたとえば速中性子

線では2以下となる。

生体の放射線感受性に対する酸素効果は、生体内分子の放射線化学反応に基づいて理解することができる。細胞内の標的分子(核酸など)に対する放射線の直接作用(反応(1))あるいは間接作用(反応(2))によってラジカルが生成すると、低 LET 放射線の場合、これらのラジカルは高 LET 放射線の場合より比較的均一に分布するので、無酸素系では生体中に存在して放射線防護能を示すグルタチオンのように SH 基を有する化合物によって修復されることがある(反応(3)、(4))が、酸素が存在するとラジカルに酸素付加が起り、反応(5)、(6)の繰り返しにより、反応(7)によって連鎖反応が停止するまで、過酸化物の生成による生体分子の損傷が多くなると考えられる。

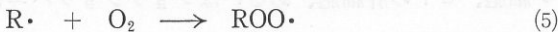
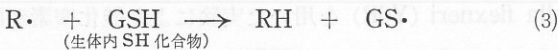
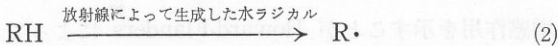
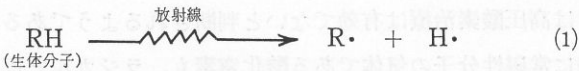


図 2 生体の放射線化学反応における  
酸素と SH 化合物の反応

癌治療に対して酸素の増感作用を、最初に臨床的に応用したのは Churchill-Davidson<sup>(9)</sup>らで、1956年に、潜水病治療用の鉄製タンクに3気圧の高圧酸素下での治療を始め、1,000~1,500 R. 1回照射を行ない良好な結果を得た。しかしながら、その後多くの高圧酸素治療の試みがなされたにもかかわらず、あまり良好な結果は得られていない。

Wilham<sup>(10)</sup>や Mallams<sup>(11)</sup>は過酸化水素をカテーテルで静脈内注入により組織酸素圧の増加による放射線増感効果を狙った試みを行なったが、これも期待した

ような結果を得ていない(1964年、1965年発表)。

基礎研究では、Hewitt<sup>(3)</sup>らが1959年に発表しているように、酸素性細胞に無酸素性細胞が1%混入しただけでも、腫瘍の治癒に要する放射線量が倍近く必要であることが明らかにされているにもかかわらず、臨床的には酸素効果が期待通りに現われないのは、腫瘍中の無酸素性細胞に酸素を付与することが極めて困難なためかも知れない。

むしろ、高圧酸素下治療で考慮しなければならないのは、Atkinsが指摘したように、正常組織の放射線感受性が増加するためと思われる正常な骨、腸、脊髄の障害が増すという結果である。

さらに、高圧酸素下という条件が与える生理的影響や過酸化水素の生体に対する毒性の考慮もこれらの研究において十分になされるべきであろうと考えられ、現時点では高圧酸素治療は有効でないと判断されるようである。

酸素と同様に常磁性分子の気体である酸化窒素も、ラジカルと反応しやすいために放射線増感作用を示すことがHoward-Flanders<sup>(12)</sup>によって見出された。彼は、*Shigella flexneri* (Y6R)を用いた実験により酸化窒素が酸素と同等の増感効果を示すことを明らかにした(1957年)。その後、ソラマメの根、エールリッヒ腹水ガン細胞、ヒトの肝細胞、あるいはショウジョウバエに対して酸化窒素により放射線増感を受けることが報告されている。これらの効果は、反応(5)で示した酸素分子の代りに酸化窒素が次のようにラジカルに付加して、生体分子の損傷を固定するものである。



その後、酸化窒素や酸素と同様にラジカルに対し付加反応しやすいN-oxyl化合物が発見された。1964年 Emmerson<sup>(13,14)</sup>らはDTBN (di-t-butyl nitroxide)がバクテリアに対し放射線増感作用を示すことを見出し、その後、低毒性のTAN (triacetoneamine-N-oxyl)やNPPN (norpseudopletiren-N-oxyl)も有効であることが発表された<sup>(15)</sup>。しかし、N-oxyl化合物は培養細胞には効果的でなく、in vivoでも良好な結果を示さなかった<sup>(16)</sup>。

酸素以外の化学物質の放射線増感作用の研究は、癌の放射線治療と関連してかなり古くから行なわれてきた。1929年と1935年には<sup>(17)</sup><sup>(18)</sup>蛍光染料や trypan blue



のような染料が試されているし、1934年には乳酸とヨード酢酸<sup>(9)</sup>、1948年には有糸分裂禁止剤である menadione<sup>(10)</sup> が腫瘍の X 線治療において臨床的に利用されている。しかし、これらの物質は毒性が強すぎたり、不安定すぎるので放射線増感剤としてその後は研究対象になっていない。

Cramp<sup>(11)</sup>らは塩化第一銅が低酸素下でバクテリアや哺乳動物細胞に対して放射線増感作用を示すことを1965年に発表した。その機構は低酸素条件下で選択的に起こる  $\text{Cu}^{\text{II}} \rightarrow \text{Cu}^{\text{I}}$  の還元反応による毒性化合物の生成によると考えられている。これは、後述するニトロ化合物の放射線増感作用機構の考察に一定の影響を与えていると思われる。

## (註)

- (1) O. Warburg, "The Metabolism of Tumors," p. 6, London (1930)
- (2) R. H. Thomlinson and L. H. Gray, Brit. J. Cancer, 9 539 (1955)
- (3) H. B. Hewitt, Brit. J. Cancer, 13 675 (1959)
- (4) A. Hollaender et. al., Cold Spring Harbor Symp. Quant. Biol., 16 103 (1951)
- (5) W. A. Rambach and H. A. Alt, Proc. Soc. Exp. Biol. N. Y., 86 159 (1952)
- (6) F. Devik, Brit. J. Radiol., 25 481 (1952)
- (7) J. Read, Brit. J. Radiol., 25 89 (1952)
- (8) O. A. Trowell, Brit. J. Radiol., 26 302 (1953)
- (9) I. Churchill-Davidson, Brit. J. Radiol., 30 406 (1957)
- (10) R. A. Wilhams, Proc. Roy. Soc. Med., 57 638 (1964)
- (11) J. T. Mallams et. al., Am. J. Roentgenol., 93 160 (1965)
- (12) P. Howard-Flanders, Nature, 180 1191 (1957)
- (13) P. T. Emmerson and P. Howard-Flanders, Nature, 204 1005 (1964)
- (14) P. T. Emmerson and P. Howard-Flanders, Radiat. Res., 26 54 (1965)
- (15) P. T. Emmerson, Int. J. Radiat. Biol., 19 229 (1971)
- (16) P. L. Olive et. al., Radiat. Res., 52 618 (1972)
- (17) J. C. Mottram, Br. Med. J., 1 149 (1929)
- (18) J. Russ and G. M. Scott, Proc. Royal Soc. London: Series B: Biol. Sci., 118 316 (1935)
- (19) W. R. Franks, M. M. Shaw and W. H. Dickson, Am. J. Cancer, 22 601 (1934)

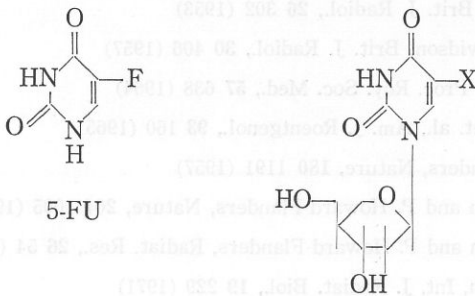
- 20) J. S. Mitchell, Br. J. Cancer, 2 351 (1948)  
 21) W. A. Cramp, Nature (London), 206 636 (1965)  
 22) W. A. Cramp, Radiat. Res., 30 221 (1967)

#### 四 ハロゲン化ピリミジン塩基による放射線増感の研究

1957年 Heidelberg<sup>(1)</sup> らは 5-fluorouracil (5-FU) を合成しこれが細胞、特に悪性腫瘍に有効であることを発表した。さらに、Greer<sup>(2)</sup> によって大腸菌の紫外線感受性が 5-bromouracil (5-BU) によって増感されることが発表された(1960年)。また、Szybalski<sup>(3)</sup> は人体の胸骨髄細胞より由来した株を用いて in vitro での培養で 5-bromodeoxyuridine (5-BUdR) や 5-iododeoxyuridine (5-IUdR) の転入を調べた上で、これらが放射線増感効果を示すことを見出した。

かくして、5-位がハロゲン置換されたピリミジン塩基およびそれらのデオキシリボヌクレオチド誘導体が、放射線増感能を有することが明らかとなった。これらの物質の増感作用機構はフッ素化合物と他のハロゲン化合物では異なる。

5-FU は、分子構造が類似している uracil と競合して、deoxyuridilic acid のメチル化による thymidilic acid の合成を阻害することにより、DNA 合成阻害剤として作用する。したがって、癌の化学治療剤としても効果を示すが、



5-ハロゲン化ピリミジンデオキシリ  
ボヌクレオチド

X=Cl ; 5-CUdR

X=Br ; 5-BUdR

X=I ; 5-IUdR

図 3 ハロゲン化ピリミジン誘導体

放射線増感剤としても作用する。

5-BUdR, 5-IUdR, 5-CUdR などのハロゲン化ピリミジンデオキシリボスクレオチド類は、生体内でチミジンの代りに DNA 鎖中に取り込まれ、DNA の放射線損傷を促進することにより放射線増感作用を示すものである。

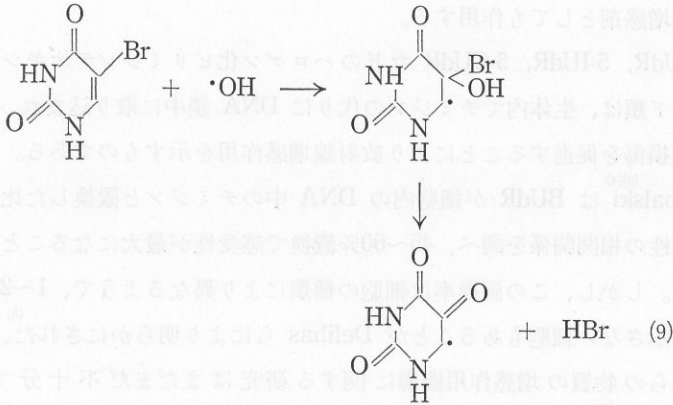
Szybalski<sup>(3)(4)</sup> は BUdR が細胞内の DNA 中のチミジンと置換した比率と放射線感受性の相関関係を調べ、45~60%置換で感受性が最大になることを報告している。しかし、この置換率は細胞の種類により異なるようで、1~2%の置換率しか示さない細胞もあることが Delihars<sup>(5)</sup>らにより明らかにされた。

これらの物質の増感作用機構に関する研究はまだ不十分である。Szybalski<sup>(6)</sup>らは、DNA 二重鎖中の BUdR の臭素とリン酸基間の静電的反撥が、リン酸エステル結合の放射線による解離をしやすくしていると述べている。また、Stahl<sup>(7)</sup>らは、特殊な酵素合成を阻止しているのではないかと推論している。これらの推論の正当性はともかく、放射線増感現象が起こるには、DNA の放射線損傷反応に関連した現象が起こっていることは間違いないと考えられるので、放射線化学的な検討がさらに行なわれる必要がある。例えば、5-ハロゲン化ピリミジン誘導体とウラシルやチミンの放射線分解にいかなる差異があるか、また、ハロゲン化ピリミジン塩基類似物質で置換された DNA 鎖の放射線による切断反応が、正常な DNA よりも起こりやすいかどうか、というような点を化学的に明らかにすることも重要であろうと思われる。

この点に関して、BU と OH ラジカルとの反応に関する Bansal<sup>(8)</sup>らと Neta<sup>(9)</sup>の研究結果は注目する必要があると思われる。彼らは BU の水溶液に放射線照射すると臭化水素が生成することを示し、このことから図4に示す反応機構を提示している。

DNA 中に存在する BU の場合も同様の反応が起こるとすると、DNA 中に修復できない損傷が固定されることにより細胞の放射線感受性を高める可能性も考えられる。

さらに、これらの増感剤に関する研究のもう一つの重要課題は、癌細胞に対して選択的に増感することができるのか、それとも正常細胞にも同様に増感効果が見られるのかということをはっきりとすることである。

図 4 BU と  $\cdot\text{OH}$  の反応

これは 癌の放射線治療におけるこれらの増感剤の有効性から推定できる。Kaplan<sup>10)</sup>らは1961年 BUdR と antimetabolite の併用が放射線治療に有効であったと報告し、Bagshow<sup>9)</sup>らは 5-FU と BUdR の併用が効果的であったことを発表している。

(註)

- (1) C. Heidelberger, *Nature*, **663** 179 (1957)
- (2) S. Greer, *J. Gen. Microbiol.*, **22** 618 (1960)
- (3) R.L. Erikson and W. Szybalski, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **4** 258 (1961)
- (4) W. Szybalski and G. Ragni, *J. Mol. Biol.*, **4** 338 (1962)
- (5) N. Delihias, *Rad. Res.*, **17** 479 (1962)
- (6) W. Szybalski, *The Molecular Basis of Neoplasia*, Univ. of Texas Press, Austin, Texas, pp. 147-171
- (7) F. W. Stahl, *Virology*, **13** 98 (1961)
- (8) K.M. Bensal, L.K. Patterson and R.H. Schuler, *J. Phys. Chem.*, **76** 2386 (1972)
- (9) P. Neta, *J. Phys. Chem.*, **76** 2399 (1972)
- (10) H. S. Kaplan et. al., *Nature*, **198** 794 (1961)

## 五 親電子性放射線増感剤の研究

### (1) 親電子性増感剤の発見

今日、癌治療用放射線増感剤として最も注目されているのが、ニトロ複素環状化合物を中心とする親電子性放射線増感剤と呼ばれている一連の化合物である。親電子性有機化合物が低酸素性細胞に対する放射線増感剤として有効であることを初めて指摘したのは、イギリスの Middlesex にある Mount Vernon 病院で癌の放射線生物化学的研究に従事していた Adams と Dewey であった。その論文は1963年に発表されている<sup>(1)</sup>。

Adams らが放射線増感剤として親電子性化合物を研究した契機は、1962年に Hart と Boag<sup>(2)</sup> や Keene<sup>(3)</sup> がパルスラジオリシスを用いて発見した水の放射線分解により水和電子が生成するという結果と Matheson<sup>(4)</sup> によって見出された溶媒和電子が容易に親電子性有機化合物と反応する事実、および N-ethylmaleimide が *E. coli* B/r に対して放射線増感作用を示すという1960年に発表された Bridges<sup>(5)</sup> の研究とその増感作用が種々のバクテリアに対して特に無酸素系において著しいという Bridges の1962年に発表された研究<sup>(6)</sup> であった。前二者の研究は物理化学的なものであり、後二者は生物学的研究であるが、異なる分野の研究成果を素早く取り入れ、結合することにより Adams の新たな研究が始まったと言える。これらの研究結果と N-ethylmaleimide が親電子性化合物であることから、Adams らは、生体内の放射線作用によって生成した電子が親電子性化合物に捕捉されて長寿命になり、それが重要な生体内物質の親電子性の大きい部位に電子を輸送して行って反応させることにより、生体内物質が電子的還元によって損傷を受ける確率が高くなると考えたのである。このような考えに基づいて、Adams らは *Serratia marcescens* の放射線感受性に対する N-ethylmaleimide, benzophenone, diacetyl の三種の電子親和性化合物の影響を調べ、いずれも増感能を示すことを認め、これによって一連の親電子性放射線増感剤の研究がスタートしたのである。

後に詳述するが、Adams らが親電子性化合物の放射線増感作用に対して考えた機構は実は本質的なものではなかった。しかし、いずれにしても、このよ

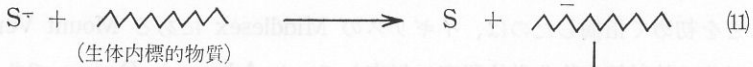
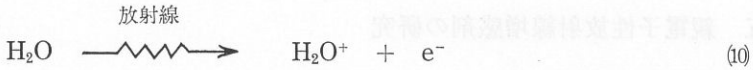


図 5 Adams が最初に提出した親電子性化合物  
による放射線増感作用の機構

うにして開始された親電子性放射線増感剤の研究は、結果的に癌治療用にも応用されるほど有望な試薬の開発へと発展していった。科学研究における最も基本的な方法は、すでに明らかにされた個々の事実の分析や総合に基づいてあるいは場合によっては研究者の独自の発想に基づいて仮説を立て、その仮説を検証するための実験、観察を行ない、その結果に基づいて理論化、法則化を行なうものであるが、自然科学分野の研究においては、しばしば、その研究目的とは全く無関係なところでの新しい現象の発見や実験上の誤操作が予期しない発明、発見に導くことがある。これらの発明、発見はいかにも偶然のなせる術であるかのように思えるが、偶然だけで生み出されるものではなく、研究中に起こる現象に対する細心の注意と予期しない現象を見出したときにその現象を解明しようとする積極的な研究態度、さらに新たな研究を推進しうる広い知識と洞察力なしには達成できないものである。予期しない現象を見出した研究者は、その現象の本質を解明すべく、再び新たな仮説を立て、実験を行なう。親電子性増感剤も Adams らの結果的には正確とは言えない仮説に基づいて始められたが、その後の意欲的な取り組みによって成果が実りつつあると言える。

#### (2) 直接作用モデルによる増感機構

さて、Adams らがこのような作用機構を仮定する以前に N-ethylmaleimide

が放射線増感能を示すことを見出した Bridges<sup>(5)</sup> が考えていた作用機構は、この物質が生体内に存在して放射線防護的作用を示す sulphhydryl 化合物と結合することにより細胞の放射線感受性が高くなるというものであった(1960年)。この考えは全く根拠がないものではなく、1957年に Littman<sup>(7)</sup> らはジアセチル、グリオキザール、ピルビン酸をはじめ他の不飽和カルボニル化合物がシステインと縮合反応を起こすことを証明している。この反応により、放射線防護作用を示す物質の生体内濃度が低下し、その結果、放射線感受性が増大する。

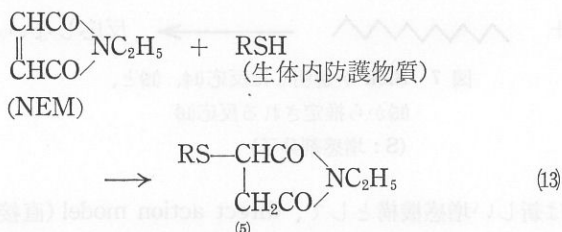


図 6 Bridges<sup>(5)</sup> が提案した NEM の放射線増感作用機構

そこで、Adams らにとっては、Bridges の機構と彼らの機構のいずれが真実なのかを検証する必要があった。-SH 化合物 (生体内防護物質) と増感剤の縮合反応は、放射線化学的に起こる諸反応に比して遅い反応であるので、もし Littman らの機構が正しければ、バクテリアに放射線照射する直前に増感剤を添加した場合にはほとんど増感効果を起こさないものと推定される。そこで、Adams らは放射線照射の数ミリ秒前に増感剤を加え混合する Rapid mixing techniques を使って実験を行ない、Bridges の考えを否定する結果を得た(1968年)<sup>(8)</sup>。

同時に、Adams らは自分達が最初に提案した親電子性化合物の電子輸送の役割に基づくとする増感機構の誤りに気付いた。それは親電子性の大きい酸素が電子を捕捉してスーパーオキサイドアニオン ( $\text{O}_2^-$ ) になるが、この  $\text{O}_2^-$  は水溶液中で DNA とは反応しないということが Blok らによって解明されたためである<sup>(9)</sup>。つまり、DNA の塩基に対して塩基よりも電子親和性の大きい酸素に付着した電子は塩基に移動することはない。したがって、電子親和性化合

物も同様に電子輸送剤として働くという機構に無理があった。

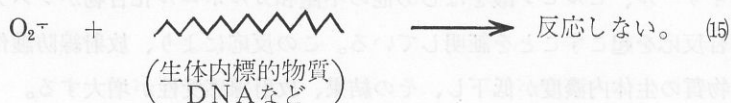
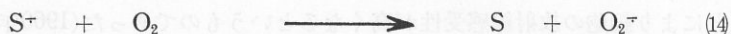


図 7 Blok が解明した反応(14)、(15)と、  
(15)から推定される反応(16)  
(S: 増感剤分子)

Adams らは新しい増感機構として、direct action model (直接作用モデル) を提案した<sup>(10)</sup>。それは、生体内の DNA のような重要物質、target molecule、に直接放射線作用により電離が起こった場合生成した電子が不可逆的に親電子性化合物に移動し、その結果 charge recombination による不活性化を抑制し、結果的に target molecule に生成するラジカル濃度を増大させるというものである。

この direct action model は、Alper によって酸素の放射線増感作用を説明

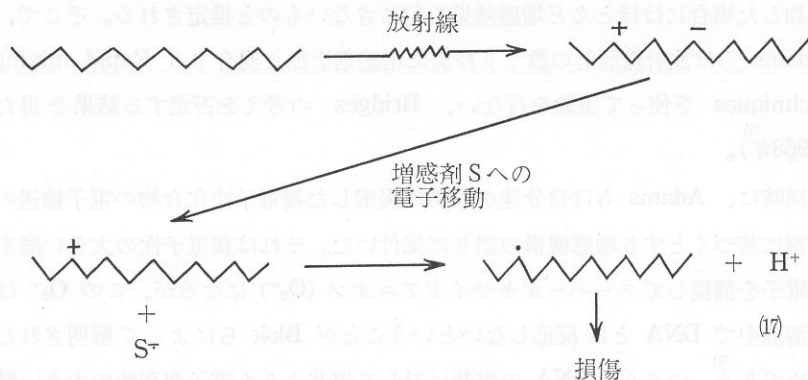


図 8 Adams の direct action model<sup>(10)</sup>



するために1956年に発表されたものと基本的な考え方は同じである。

この機構は、固体の DNA に menadione を共存させて放射線照射すると生成ラジカル濃度が増大するという ESR 研究 (Mitchell 1968)<sup>(11)</sup> やピリミジン塩基、プリン塩基やスクレオチドの電子付加体から menadione や N-ethylmaleimide へ電子移動が起こることを見出した pulse radiolysis 研究<sup>(12)</sup> によって支持された。その後、この直接作用モデルを支持する固相 DNA の放射線照射による ESR 研究も数多くなされてきた。一方、間接作用 (水の放射線分解によって生成する  $\cdot\text{OH}$ ,  $\cdot\text{H}$ ,  $e_{aq}^-$  との反応による生体分子の損傷) に対して親電子性化合物は放射線増感を起こさないと Adams らは考えていた。<sup>(13)</sup>

さて、1970年の国際放射線科学会において、Adams らは新しい放射線増感剤として、p-nitroacetophenone を見出したことを発表した。この物質は低酸素条件下でのバクテリアや哺乳動物の細胞に対しても増感能があることが明らかとなった。<sup>(14)(15)</sup> しかし、この化合物は難水溶性であることと薬学的に問題があったために in vivo での研究は進展しなかった。しかしながら、これらの研究は、親電子性化合物の中で増感剤としてのニトロ化合物の有効性が注目される契機となった。

Chapman らは、種々のニトロフラン誘導体が低酸素下で放射線増感作用を示すことを見出した。<sup>(16)(17)</sup> しかし、この種の化合物も in vitro では有効であるけれども、その薬理作用と毒性のために in vivo では利用されなかった。Mt. Vernon 病院では Adams らを中心に、高活性の増感剤の研究が意欲的に続けられたが、その対称は nitro 化合物を中心とするものとなっていた。

### (3) 間接作用での増感機構

Adams らが直接作用モデルを発表した頃から、親電子性化合物の放射線増感機構を化学的に検討する研究が増加してきた。特に、Atomic Energy of Canada Ltd. の Greenstock や Raleigh 達の研究グループの活躍は目覚ましいものであった。彼らはまず、1972年に Adams らの直接作用モデルの考えに基づいて、DNA 関連物質の無酸素系水溶液中での放射線分解反応が親電子性化合物であるニトロフラン誘導体共存下で促進されることを証明した。<sup>(18)</sup> この研究では塩基の分解とスクレオチドのリン酸脱離のいずれの反応も親電子性化合物

の共存により促進されることから、生体内では DNA の塩基損傷と DNA 鎖切断の両方が促進されることにより放射線感受性が增大すると推論された。生体内反応モデルとしての化学反応系による増感剤の研究は、この論文の発表後盛んになる。

Greenstock らの最初の研究は、<sup>(13)</sup> 上記のように生体系の放射線感受性と矛盾しない結果を示したのであるが、さらに詳細な検討を加える中で、より複雑な内容が明らかになっていく。Greenstock と Dunlop は DNA 関連物質と親電子性化合物が共存する水溶液の Pulsed Radiochemicals 研究によって、水の放射線分解によって生成する水ラジカル ( $\text{OH}^\bullet$ ,  $\text{H}^\bullet$ ,  $\text{e}^-_{\text{aq}}$ ) との反応で生成した DNA 関連物質のラジカルやアニオンラジカルから容易に親電子性化合物への電子移動が起こることを確かめ、<sup>(14)</sup> 間接作用においても電子移動による増感が起こる可能性を示唆した(1973年発表)。さらに、<sup>(15)</sup> 彼らはニトロフラン誘導体が DNA 関連物質から生成したラジカルに付加する事実も確認し、この反応も DNA の損傷を固定化する原因の一つと考えた。これらの増感機構モデルは図 9 に示す。  
in vitro での細胞の放射線照射効果では直接作用の比率は25~35%とされていることから、間接作用に対する親電子性化合物の影響の方が重要な意味をもつと考えられる。

Greenstock らの提起した機構のように中性ラジカルから親電子性増感剤への電子移動反応による放射線増感が起こるとすれば、DNA 塩基部の損傷の増加に効果的に作用するだけでなく、DNA の糖部に生成するラジカルからの電子移動によって主鎖切断を増加させることも当然起こることになると考えられる。しかし、DNA の切断反応モデルである種々のヌクレオチド水溶液からのリン酸脱離反応に関して1974年に発表された Raleigh らの研究では、<sup>(16)</sup> ニトロベンゼン誘導体(親電子性化合物)の添加により、放射線によるリン酸脱離反応

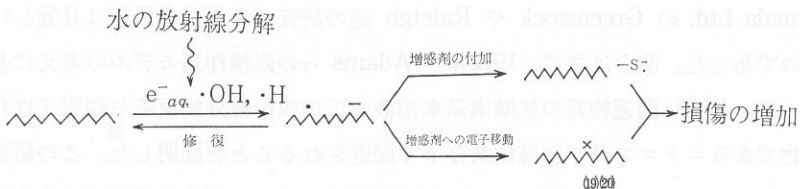


図 9 Greenstock らが提案した増感機構

が確実に促進されるのは 5'-GMP と 5'-AMP だけで、5'-CMP と 5'-UMP は条件によって促進される場合と阻害される場合があり、3'-スクレオチドの場合はすべて阻害される傾向を示した。このような事実は中性ラジカルから親電子性化合物への電子移動が起こっていると看做しても、DNA 鎖の切断が親電子性化合物の添加によって増大するとは限らないことを示している。したがって、DNA 損傷の増大が、生体内に生成した DNA 分子中のラジカルやアニオンラジカルと増感剤の反応だけで説明するのは困難である。

#### (4) Metronidazole と Misonidazole の発見

4(5)-ニトロイミダゾール誘導体である Metronidazole は、*in vivo* で、また臨床的に放射線による癌治療に応用された最初の増感剤である。また、Metronidazole に続いて発見された Misonidazole は Metronidazole よりも有効な増感剤として注目されている。これらの化合物はいずれもニトロイミダゾール誘導体で増感能が高い(増感率は約 2 またはそれ以上)低毒性の優れた増感剤であるばかりでなく、これらの研究を通じて増感機構に新しい見方を生み出した。

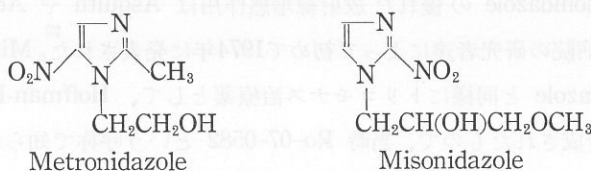


図 10 Metronidazole と Misonidazole

Metronidazole の放射線増感剤としての利用は、全く偶然のきっかけによって始まった。1972年夏、Brunel 大学の Willson は、Promethazine の放射線防護作用について Slater 教授と議論する機会があった。彼はその日のうちに、Promethazine の製造会社である May and Baker 社の Bulletin 中に、この物質に関する資料 “Metronidazole; A Review” (by Dr. McFadzean) を見つけた。それは上記の如くニトロ化合物であって、無酸素性細胞に対して選択的に毒性を示すという記述があった。早速、Willson は Metronidazole の放射線増感能について研究し、実際に低酸素性細胞に対する選択的な増感能を持

つことを見出した。増感能はニトロフラン誘導体ほど大きくはなかったが、薬性が良好で、低毒性であるために、1973年3月には Willson は放射線治療に有効であるということを示唆した。

すでに、この頃には多くの芳香族ニトロ化合物や複素環状ニトロ化合物が放射線増感作用を示すことが知られていたが、これらの化合物はいずれも代謝が早すぎたり、毒性が強すぎて *in vivo* では使用されなかった。放射線増感剤として臨床的にも利用できるには、代謝が徐々に行なわれるものでないと、血管から離れた位置に存在する腫瘍中の低酸素性細胞中に血液で輸送される増感剤が拡散していくことができない。mice の腫瘍中に Metronidazole が拡散するかどうかが検討され、投薬後、照射に十分な時間、1 mM オーダーの薬剤濃度が腫瘍中に保たれることが確認されている。

*in vivo* での研究は、1973年頃より盛んに行なわれた。腫瘍を持った動物の放射線治療に対して Metronidazole は効果的に作用することが報告され、動物実験での耐薬性の限界が確認されたのち、臨床テストが 0.2 g/kg 以下の経口投与で行なわれ、一定の成果を得ている。

一方、Misonidazole の優れた放射線増感作用は Asquith や Adams ら、Mt. Vernon 病院の研究者達によって初めて1974年に発表された。Misonidazole は Metronidazole と同様にトリコモナス治療薬として、Hoffman-La-Roche 社によって合成されたもので、当時 Ro-07-0582 という呼称で知られていた。Ro-07-0582 は *in vitro* での Chinese hamster の細胞に対して酸素効果に近い増感能を示し、増感性に関しては Metronidazole よりも優れていた。しかし、細胞毒性の点では Metronidazole の方が低毒性である。

実際に *in vivo* での増感効果が明らかになったために、Metronidazole や Misonidazole の放射線増感の作用機構に関する研究は、多くの研究者達の関心を集めた。パルスラジオリシスや ESR の研究によって、Metronidazole や Misonidazole を含むニトロイミダゾール誘導体が、放射線によって生成した種々のラジカルと反応することにより増感する可能性が指摘された。つまり、酸素や増感剤がない場合には、生体内で放射線により生じた生体分子ラジカルは生体内の防護物質である -SH 化合物によって修復されるが、酸素やニトロ

化合物が存在すれば、これらがラジカルと反応して損傷が固定化されるというものである。この増感機構は、基本的には図11に示した Greenstock<sup>(19)(20)</sup> らが提案したものと同じである。

しかし、パルスラジオリシスや ESR の研究によって明らかにされるのは、あくまでも中間活性種の挙動であり、これらの研究によって明らかにされる現象は反応の全体像ではない。最終的に生体物質の損傷がどうなるかが問題であり、この点ではすでに 88~89 ページで述べた Raleigh<sup>(21)</sup> らの研究結果からも、生体分子ラジカルと増感剤の反応による損傷の固定化が増感機構の重要な側面とは考えにくいのである。

#### (5) ニトロ化合物の還元反応と増感作用機構

新しい放射線増感機構についての考えは、放射線とは関係のない研究の結果に基づいて生み出された。前述の如く Metronidazole は放射線増感剤として注目される以前から、すでにトリコモナス治療薬として研究され、使用されていた。これらの研究の中で、Metronidazole のニトロ基が無酸素下での clostridia の懸濁液中で還元されることが、1972年 O'Brien<sup>(27)</sup> によって発表された。この研究に先立ち、chloramphenicol や nitrofurazone が大腸菌の懸濁液中で還元されることが Smith<sup>(28)</sup> と McCalla<sup>(29)</sup> によってそれぞれ見出されていた。つまり、ニトロ誘導体が無酸素下では微生物によって還元されるのである。

その後、Metronidazole や Misonidazole が無酸素性あるいは低酸素性の細

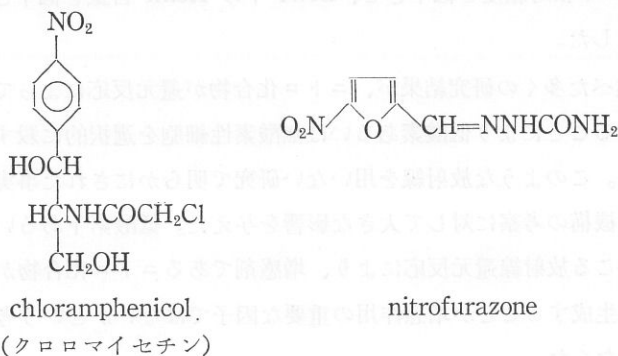


図 11 chloramphenicol と nitrofurazone

胞に対して選択的に毒性を示す事実が次々に発表された。Ings<sup>(40)</sup>らは<sup>14</sup>Cでラベルした Metronidazole を用いて、Trichomonas vaginalis 細胞に対する影響を調べ、無酸素条件下では Metronidazole が DNA の複製を禁止していることを見出した。彼らは、これは生体内で Metronidazole の還元反応が起こり、ニトロ基がヒドロキシルアミノ化されたのち DNA に結合したためと述べている。さらに、Hall<sup>(41)</sup>らは Misonidazole が、また Mohindra<sup>(42)</sup>らは Metronidazole と nitrofurazone が、選択的に低酸性細胞に対して毒性を示す事実を報告している。

ニトロ化合物が菌や細胞により還元されるという事実と選択的に低酸素性細胞に対して毒性を示すという事実から、ニトロ化合物の生体内還元生成物が毒性化合物なのではないかということが推定されるのは極めて自然なことである。このことを支持する結果が、その後も発表されている。Misonidazole などのニトロ化合物の低酸素性細胞や無酸素性細胞に対する毒性が、還元剤であるアスコルビン酸によって高められることが最近、Josephy<sup>(43)</sup>ら、Koch<sup>(44)</sup>らあるいは Moore<sup>(45)</sup>らによって明らかにされた。また、生体内の nitroreductase による  $-NO_2 \rightarrow -NO_2^-$  の還元反応が酸素により抑制されることも明らかにされた<sup>(46)(47)</sup>。これらの研究に先立ち、1971年には dihydroflavin がニトロ化合物を化学的に還元する結果が、Gibian<sup>(48)</sup>らによりすでに明らかにされていた。さらに、Knight<sup>(49)</sup>らは、Misonidazole の電気的還元生成物が、E. coli DNA の hyperchromicity や相対粘度を低下させ、DNA 中の Helix 含量を低下させることを明らかにした。

以上に述べた多くの研究結果が、ニトロ化合物が還元反応によって毒性化合物に変化することにより低酸素あるいは無酸素性細胞を選択的に殺すことを明らかにした。このような放射線を用いない研究で明らかにされた事実が、放射線増感作用機構の考察に対して大きな影響を与えた。低酸素下あるいは無酸素下でのみ起こる放射線還元反応により、増感剤であるニトロ化合物から毒性還元生成物が生成することが増感作用の重要な因子ではないかという考えが出されるようになった。

1977年9月、イギリスで行なわれた L. H. Gray Conference においてカナダ

の Ontario Cancer Institute の Whitmore<sup>(50)</sup>らは、「Misonidazole およびその誘導体の増感と毒性」というテーマで研究発表した。Chinese hamster の CHO 細胞における Misonidazole の放射線増感において、Misonidazole 添加後直ちに照射した場合は dose modifying 的に増感（線量—生存率曲線において直線部分の勾配が無添加より大きくなるが、その切片は変化しないような増感）が起こるが、添加後長時間経過して照射した場合は勾配の増大とともに生存率曲線の肩が小さくなることを見出した。また窒素中で incubate した細胞中の Misonidazole が部分的に少なくとも三種類の化合物に変化し、そのうちの一つが Zn-NH<sub>4</sub>Cl で化学的に Misonidazole を還元した場合に生成する化合物と同じものであった。しかも、この化合物は細胞に対して強い毒性を示した。これらの結果に基づいて、彼らは放射線増感作用においても Misonidazole の還元反応が影響を与えているかも知れないことを示唆した。

Misonidazole の放射線還元物の正確な同定は未だなされていないが、Whillans<sup>(51)</sup>らはニトロ基の4電子還元が起こっていることを1980年に発表しており、その生成物はヒドロキシルアミノ化合物ではないかと述べている。

筆者らは<sup>(52)(53)</sup> Misonidazole と各種 DNA 塩基の共存する蟻酸ソーダ含有水溶液を無酸素下で放射線照射した場合、反応系に生成する水和電子は Misonidazole と選択的に反応し、Misonidazole の4電子還元が終了するまで塩基の還元が起こらないことを見出した。この事実は無酸素細胞中では DNA の水和電子による損傷反応は Misonidazole が存在するとむしろ抑制されること、Misonidazole の4電子還元化合物が生成することを示唆する。

ヒドロキシルアミノ化合物やその生成過程で生成するニトロソ化合物は反応性に富み、細胞毒性を示す物質である。例えば、ヒドロキシルアミノ基は生体内で酵素的にエステル化されるとグアニンと容易に反応することが知られてい<sup>(54)</sup>る。

以上に述べたように、ニトロ化合物の放射線増感作用において、放射線還元反応による毒性物質の生成が重要な要素であると思われる。今後は、放射線還元による生成物の正確な同定とその毒性の確認、毒性の発現機構としてその還元生成物と生体関連物質との反応に関する研究などが推進される必要があると

考えられる。

(6) ニトロ化合物と SH 化合物の反応

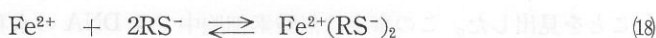
親電子性増感剤の初期の研究において、NEM のような増感剤が生体内の放射線防護剤として作用する SH 化合物と反応することにより、放射線増感をもたらすという考えが提案されたが、実験的に否定されたことをすでに述べた。

Metronidazole や Misonidazole などのニトロ化合物も SH 化合物とは反応するが極めてその反応速度は小さい。それゆえに、これらの増感剤が生体内放射線防護物質と反応することによる増感の可能性は小さいと最初は考えられていた。

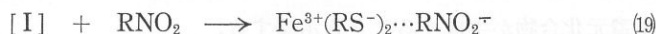
ところが、すでに述べたようにニトロ化合物は無酸素下では生体内還元が起こる。しかも、この還元が、p-chloromercuribenzoate, 銀イオン、ジアミド、NEM など、SH 化合物と反応する試薬を加えると還元が抑制されることが明らかになった。また、鉄配位試薬も抑制効果を示すことが分った。

これらの結果は、1975年に発表された Willson らの研究によって明かに解明されたのである。彼らは硫酸鉄と cystein を含む溶液中に Metronidazole を加えると、酸素不在下では急速な還元反応が起こることを見出したのである。還元速度は pH に依存し、鉄イオンと cystein の濃度によって変化した。

この反応機構は次のように考えられた。



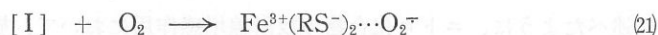
[I]



[II]



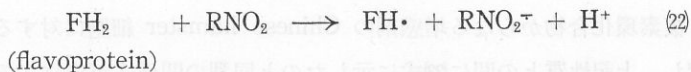
酸素が存在する場合は次の反応により [II] のコンプレックス形成が阻害される。



銅イオンも還元の触媒作用を示すが、鉄に比して反応速度は非常に低い。

最近の研究では、還元型の flavoprotein を含む還元系が p-nitobenzoate を還元することが見出されている。





しかし、生体内では Fe イオンと SH 化合物の系が重要な役割を演ずるものと思われ、他の還元型酵素は、ニトロ基の還元により SH 化合物が酸化されて生成する -SS- 化合物を再び -SH 化合物に還元する役割を担っているものと考えられる。

Misonidazole の場合も、Fe<sup>++</sup>-SH 化合物系で還元されることを Willson は報告している。<sup>(57)</sup>

以上に述べた結果から、ニトロ化合物は細胞毒性化合物に変化することに加えて生体内放射線防護物質の濃度を低下させることも低酸素性細胞を増感する一因である可能性が大きい。この問題の解明のために、DNA あるいはその関連物質、SH 化合物およびニトロ化合物を含む系での放射線化学的研究がなされる必要がある。

#### (7) 増感能の支配因子—親電子性と親油性—

放射線増感剤の増感能を表わす DMF<sup>(58)</sup> と増感剤の性質との関係について定量的な研究を初めて行なったのは Raleigh ら (1973年) であった。彼らはニトロ芳香族系化合物について、in vitro での DMF と Hammett  $\sigma$  値との間に定量的関係を見出した。

彼らの研究の基礎となった考えは、薬剤の生物的效果とその性質との間に<sup>(60)</sup> 1971年頃から知られていた次のような関係である。

$$-\log C = b_0 + b_1 E + b_2 \log P + b_3 (\log P)^2 \quad (23)$$

ここで、C はある一定の生物効果をもたらす薬剤濃度、E は薬剤の電子的性質、P は 油脂/水 に対する薬剤の分配率である。

増感剤の親電子性を表わす定量的な尺度として、1975年に Meisel<sup>(61)</sup> らによって、また1976年に Wardman<sup>(62)</sup> らによって種々のニトロ化合物の一電子還元電位が測定されて以来、一電子還元電位と増感能の関係についての定量的研究が進んだ。

Adams<sup>(63)</sup> らは増感能と親電子性 (一電子還元電位 E) および親油性 (分配率 P) の間の定量的関係を最近 (1979年) 発表した。彼らは35種のニトロ芳香族および

ニトロ複素環化合物からなる増感剤の Chinese hamster 細胞に対する増感能を測定し、上記性質との間に2式に示したのと同型の関係式が成立することを明らかにした。しかし、この *in vitro* での増感能に対して、親油性はほとんど影響を与えず、主として一電子還元電位の増大によって放射線増感能が高まる傾向があると述べている。

一方、Anderson<sup>64)</sup>らによると、増感剤の親油性も重要な因子となる結果が *in vitro* で得られている。彼らは Misonidazole と同程度の一電子還元電位を有する9種の nitroimidazole 誘導体の増感能を *E. coli* AB 1157 および *S. lactis* 712 について測定し、親油性との関係を調べた。その結果、親油性も明らかに増感能に一定の影響を与えること、*S. lactis* に対して親油性がより大きな効果を持つことを明らかにした。親油性は膜の透過の難易度の尺度と考えられ、親油性の大きいものほど細胞内に取り込まれやすく、増感能が大きくなるものと思われる。

増感剤の親電子性が大きいものほど増感能が高いという傾向は、今まで親電子性増感剤について提案されてきた増感作用機構のいずれとも矛盾するものでない。ニトロ化合物の還元による毒性化合物の生成によると考える増感機構の場合も、親電子性が大きい化合物ほど還元されやすく毒性化合物も生成しやすいだろう。また、酸素存在下では全く放射線増感剤の効果がみられないのは、増感剤よりも親電子の大きい酸素が、放射線によって生成した水和電子と反応しやすく、また増感剤が水和電子と反応して還元中間体であるアニオンラジカルが生成しても酸素への電子移動により元の増感剤に戻ってしまいやすいことに起因すると思われる。

生体分子中に生成したラジカルからの電子移動反応も親電子性が大きいものほど起こりやすい。また、SH 化合物との反応も同様であろうと推定される。したがって親電子性と増感能の関係から、増感作用機構を推論することは困難である。しかし、親電子性の大きい化合物でもニトロ基を含まない化合物でニトロ化合物のような増感能を示すものがあまりないという事実は、電子移動反応による生体分子の酸化に基づく増感作用はあまり重要でないことを示唆している。

## (8) 新しい親電子性放射線増感剤の開発

各種親電子性化合物の放射線増感能が研究された結果、増感剤として特に有効性を発揮したのは、2-nitroimidazole 誘導体、4(5)-nitroimidazole 誘導体、nitrofurane 誘導体、nitrobenzene 誘導体であった。最近、これらの誘導体に属する新規化合物や他の親電子性化合物についても検討がなされているが、優れた増感能を示しているのはいずれもニトロ化合物である。

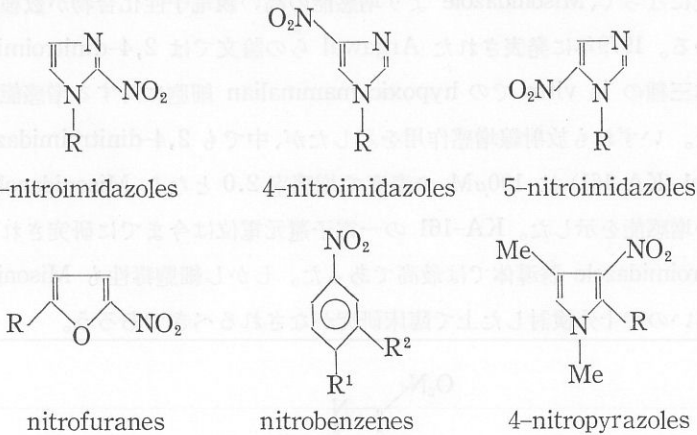
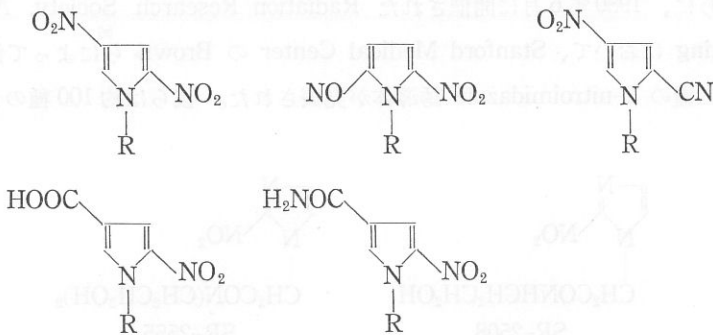


図 12 nitro-放射線増感剤

1977年9月に開催された L. H. Gray Conference における報告の中から拾い上げてみると、まず、Raleigh<sup>(65)</sup>らは種々の nitropyrole 誘導体が in vitro の

図 13 Raleigh<sup>(65)</sup>らが検討した nitropyrole 誘導体

実験で Misonidazole や Metronidazole と同程度の増感能を示すことを報告している。

Watts<sup>(66)</sup>らは塩素化 Nitroimidazole や新しい Nitrofurane 化合物 (Furaspor)<sup>(67)(68)</sup> について増感効果を検討している。また、Anderson<sup>(69)</sup>らは bipyridinium 化合物や nitropyridinium 化合物の放射線増感性を明らかにした。しかし、これらの化合物は Misonidazole より優れた増感能を示していない。

最近になって、Misonidazole より増感能の高い親電子性化合物が数種見出されている。1979年に発表された Argawal<sup>(69)</sup>らの論文では、2,4-dinitroimidazole 誘導体三種の *in vitro* での hypoxic mammalian 細胞に対する増感能が検討された。いずれも放射線増感作用を示したが、中でも 2,4-dinitroimidazole-1-ethanol (KA-161) は  $100\mu\text{M}$  の濃度で増感率 2.0 となり Misonidazole よりも高い増感能を示した。KA-161 の一電子還元電位は今までに研究された一連の nitroimidazole 誘導体では最高であった。しかし細胞毒性も Misonidazole より高いので十分検討した上で臨床研究がなされるべきであろう。

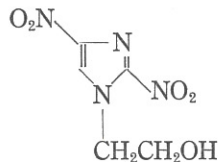


図 14 KA-161

さらに、1980年6月に開催された Radiation Research Society, Annual Meeting において、Stanford Medical Center の Brown<sup>(70)</sup>らによって注目すべき二種の 2-nitroimidazole 誘導体が発表された。彼らは約 100 種の化合物

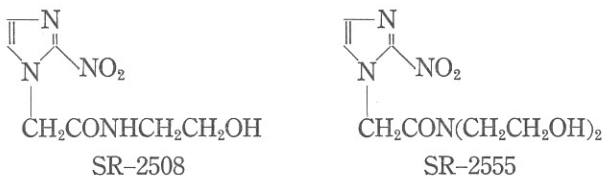


図 15 新しい増感剤 SR-2508 と SR-2555

を合成し、試験した中から SR-2508 と SR-2555 と名付けた二種の化合物が、Misonidazole に代る増感剤になるだろうと報告している。これらの物質は Misonidazole よりも低い親油性 (octanol/water 分配係数 0.03~0.04) を持ち、Misonidazole よりも神経毒性が弱いことが期待されている。

今後の親電子性増感剤の開発は、その増感作用機構から推察する限り、ニトロ基を有する複素環状化合物が中心になるだろうが、Brown らが目指しているように、低毒性化合物の探索も重要になると思われる。

なお、Misonidazole に関しては、イギリスとアメリカでは臨床第二相試験が行なわれ、日本においても臨床第一相試験がほぼ終了したようで、今後の研究成果が期待される。

(註)

- (1) G.E. Adams and D.L. Dewey, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **12** 473 (1963)
- (2) E.J. Hart and J.W. Boag, *J. Amer. Chem. Soc.*, **84** 4090 (1962)
- (3) J.P. Keene, *Nature*, **197** 47 (1963)
- (4) M.S. Matheson, *Annual Reviews of Physical Chemistry*, **13** (1962)
- (5) B.A. Bridges, *Nature*, **188** 415 (1960)
- (6) B.A. Bridges, *Rad. Res.*, **16** 232 (1962)
- (7) F.E. Littman, E.M. Carr and J.K. Klaus, *Science, N. Y.*, **125** 737 (1957)
- (8) G.E. Adams, M.S. Cooke and B.D. Michael, *Nature, Lond.*, **219** 1368 (1968)
- (9) J. Blok, L.H. Luthens and A.L.M. Roos, *Rad. Res.*, **30** 468 (1967)
- (10) G.E. Adams and M.S. Cooke, *Int. J. Radiat. Biol.*, **15** 457 (1969)
- (11) J.S. Mitchell, "Radiation Chemistry," edited by G. Stein (London, N. Y., Sydney: Interscience), p. 287, 1968
- (12) C.L. Greenstock, G.E. Adams, R.L. Willson, 1969, "Second Int. Symp. on Radiosensitizing and Radioprotecting Drugs," edited by M. Quintilliani and H. Moroson (London: Taylor & Francis, Ltd.)
- (13) G.E. Adams and R.L. Willson, *Advances in Radiation Research, Biology, and Medicine. Proc. 4th Int. Cong. Radiat. Res., Evian, 1970*, pp. 199-215, Gordon and Beach, New York

- (14) G. E. Adams, J. C. Asquith, D. L. Dewey, J. L. Foster, B. D. Michael and R. L. Willson, *Int. J. Radiat. Biol.*, **19** 575 (1971)
- (15) J. D. Chapman, R. G. Webb and J. Borsa, *Int. J. Radiat. Biol.*, **19** 501 (1971)
- (16) J. D. Chapman, J. A. Raleigh, J. Borsa, R. G. Webb and D. Whitehouse, *Int. J. Radiat. Biol.*, **21** 475 (1972)
- (17) A. P. Reuvers, J. D. Chapman and J. Borsa, *Nature*, **237** 402 (1972)
- (18) C. L. Greenstock, J. A. Raleigh, W. Kremers and E. McDonald, *Int. J. Radiat. Biol.*, **22** 401 (1972)
- (19) C. L. Greenstock and I. Dunlop, *Radiat. Res.*, **56** 428 (1973)
- (20) C. L. Greenstock, J. Raleigh, E. McDonald and R. Whitehouse, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, **52** 276 (1973)
- (21) J. A. Raleigh, R. Whitehouse and W. Kremers, *Radiat. Res.*, **59** 453 (1974)
- (22) J. L. Foster and R. L. Willson, *Brit. J. Radiol.*, **46** 234 (1973)
- (23) G. E. Adams, J. C. Asquith, M. E. Watts and C. E. Smithen, *Nature (London)*, **239** 23 (1972)
- (24) J. A. Raleigh, J. D. Chapman and J. Borsa, *Int. J. Radiat. Biol.*, **23** 377 (1973)
- (25) J. D. Chapman, A. P. Reuvers and J. Borsa, *Brit. J. Radiol.*, **46** 623 (1973)
- (26) J. C. Asquith, J. L. Foster, R. L. Willson, R. Ings and J. A. McFadzean, *Brit. J. Radiol.*, **47** 474 (1974)
- (27) J. C. Asquith, M. E. Watts, K. Patel, C. E. Smithen and G. E. Adams, *Radiat. Res.*, **60** 108 (1974)
- (28) H. B. Stone and H. R. Withers, *Radiology*, **113** 441 (1974)
- (29) A. C. Begg, P. W. Sheldon and J. L. Foster, *Brit. J. Radiol.*, **47** 399 (1974)
- (30) J. Denekamp, B. D. Michael and S. R. Harris, *Radiat. Res.*, **60** 119 (1974)
- (31) R. C. Urtasun, J. Stirmwind, H. Rabin, P. R. Band and J. D. Chapman, *Brit. J. Radiol.*, **47** 297 (1974)
- (32) R. C. Urtasun, J. D. Chapman, P. Band, H. R. Rabin, C. G. Fryer and J. Stirmwind, *Radiology*, **117** 129 (1975)
- (33) R. L. Willson, B. C. Gilbert, P. D. R. Marshall and R. O. C. Norman, *Int. J. Radiat. Biol.*, **26** 427 (1974)
- (34) P. B. Ayscough, A. J. Elliot and G. A. Salmon, *Int. J. Radiat. Biol.*, **27** 603 (1975)
- (35) D. W. Whillans, G. E. Adams and P. Neta, *Radiat. Res.*, **62** 407 (1975)

- (36) P. Wardman, *Int. J. Radiat. Biol.*, **28** 585 (1975)
- (37) R. W. O'Brien and J. G. Morris, *Arch. Mikrobiol.*, **84** 225 (1972)
- (38) G. N. Smith and C. S. Worrel, *Arch. Biochem.*, **28** 232 (1950)
- (39) D. R. McCalla, A. Reuvers and C. Kaiser, *J. Bacteriol.*, **104** 1126 (1970)
- (40) R. M. J. Ings, J. A. McFaddean and W. E. Ormerod, *Biochemical Pharmacology*, **23** 1421 (1974)
- (41) E. J. Hall, D. Phil and L. Roizin-Towle, *Radiology*, **117** 453 (1975)
- (42) J. K. Mohindra and A. W. Rauth, *Cancer Res.*, **36** 930 (1976)
- (43) P. D. Josephy, B. Palcic and L. D. Skarsgard, *Nature*, **271** 370 (1978)
- (44) C. J. Koch, R. L. Howell and J. E. Biaglow, *Br. J. Cancer*, **39** 321 (1979)
- (45) B. A. Moore, B. Palcic and L. D. Skarsgard, *Radiat. Res.*, **67** 459-473 (1976)
- (46) R. P. Mason and J. L. Holtzman, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **67** 1267 (1975)
- (47) P. Wardman and E. D. Clarke, *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, **69** 942 (1976)
- (48) M. J. Gibian and A. L. Baumstark, *J. Org. Chem.*, **36** 1389 (1971)
- (49) R. C. Knight, D. A. Rowley, I. Skolimowski and D. I. Edwards, *Int. J. Radiat. Biol.*, **36** 367 (1979)
- (50) G. F. Whitmore, S. Gulays and A. J. Varghese, *Br. J. Cancer*, **37** suppl. III 115 (1978)
- (51) D. W. Whillans and G. F. Whitmore, *Radiation Research Society, Annual Meeting, 1980, Gc-9*
- (52) T. Wada, H. Ide, H. Okubo and T. Kagiya, *Japan Radiation Research Society, The 23d Annual Meeting, 1980, 12-p-c-6, J. Rad. Res.*, **22** 62 (1981)
- (53) 鍵谷、和田、西本、井出、文部省科研費がん特別研究 I (小野山班) 昭和55年度研究報告書 p. 19 (1980)
- (54) 首藤、日本化学会第43春季年会、特別講演 3S 特 4 (1981)
- (55) R. L. Willson and A. J. F. Searle, *Nature*, **255** 498 (1975)
- (56) R. P. Mason and J. L. Holtzman, *Biophys. Biochem. Res. Commun.*, **67** 1267 (1975)
- (57) D. Bahnmann, H. Basaga, J. R. Dunlop, A. J. F. Searle and R. L. Willson, *Brit. J. Cancer*, **37** suppl. III 16 (1978)

- 58) Dose Modifying Factor, 増感剤を用いないである一定の生物効果を与える線量を、増感剤を用いた場合のそれで割った値。
- 59) J. A. Raleigh, J. D. Chapman, J. Borsa, W. Kremers and A. P. Reuvers, *Int. J. Radiat. Biol.*, **23** 377 (1973)
- 60) C. Hansch, "Drug Design," Vol. 1, p. 271, edited by E. J. Ariens, Academic Press, New York, 1971
- 61) D. Meisel and P. Neta, *J. Am. Chem. Soc.*, **97** 5198 (1975)
- 62) P. Wardman and E. D. Clarke, *J. Chem. Soc. Faraday Trans.*, **72** 1377 (1976)
- 63) G. E. Adams, E. D. Clarke, I. R. Flockhart, R. S. Jacobs, D. S. Sehmi, I. J. Stratford, P. Wardman and M. E. Watts, *Int. J. Radiat. Biol.*, **35** 133 (1979)
- 64) R. F. Anderson and K. B. Patel, *Br. J. Cancer*, **39** 705 (1979)
- 65) J. A. Raleigh, J. D. Chapman, A. P. Reuvers, J. E. Biaglow, R. E. Durand and A. M. Rauth, *Br. J. Cancer*, **37** suppl. III 6 (1978)
- 66) M. E. Watts and R. S. Jacob, *Br. J. Cancer*, **37** suppl. III 80 (1978)
- 67) R. F. Anderson and K. B. Patel, *Int. J. Radiat. Biol.*, **32** 471 (1977)
- 68) R. F. Anderson, K. B. Patel and C. E. Smithen, *Br. J. Cancer*, **37** suppl. III 103 (1978)
- 69) K. C. Argawal, B. C. Millar and P. Neta, *Rad. Res.*, **78** 532 (1979)
- 70) J. M. Brown, W. W. Lee, N. Y. Yu and D. M. Brown, *Radiation Research Society, Annual Meeting, 1980, Ce-5*

## 六 新しいタイプの放射線増感剤

ニトロ複素環化合物を中心とする親電子性放射線増感剤は、臨床研究も含めて世界各国で意欲的な取り組みが継続されているが、これとは別に新タイプの増感剤研究も進展しつつある。

その一つに PLD (potentially lethal damage) 修復の阻害剤として作用する化合物がある。これは1967年に Philips<sup>(1)</sup>らによって初めて試みられたもので、その後、Piro<sup>(2)</sup>ら、中津川、菅原<sup>(3)(4)</sup>らによって研究が行なわれている。PLDR を阻害する化合物としては、Actinomycin D, Cordycepin (3'-dA), 3-deoxy-guanocin (3'-dG) などが見出されている。中津川らは 3'-dG, 3'-dA, 7904 な



だが Chinese hamster 細胞に対して2前後の増感率を示すと述べている。これらの作用機構は、Actinomycin D の場合は DNA 鎖の dG-dC 塩基対間に入り込み、RNA 鎖の elongation と DNA 鎖の elongation を抑制するためと考えられており、Cordycepin 等は RNA の 3' 末端の elongation 抑制に作用していると考えられている。

一方、SLD (Sublethal Damage) 修復阻害剤も放射線増感することが、Elkind<sup>(5)</sup>らや Philips<sup>(1)</sup>らにより見出されている。Actinomycin D や cycloheximide などである。

別の作用機構による放射線増感剤として、膜作用試薬が放射線増感能を示すことが1975年に報告されている。Shenoy<sup>(6)(7)</sup>らはプロカインやクロルプロマジンのような膜の構造変化を起こす物質が低酸素性細胞に選択的に放射線増感を起こすことを発見した。リドカインや塩化アセチルピリジニウムなどの膜作用試薬についても同様の効果があることを米井<sup>(8)</sup>らは見出している。これらの薬剤は照射直後に加えても効果を発揮するという点では従来の増感剤とは異なった作用機構に基づくことを示唆しており、放射線損傷の標的物質としての膜の重要性を意味する。

EDTA 誘導体で最初は化学療法剤として開発された ICRF159 (1,2-bis(3,5-dioxopiperazine-1-yl) propane) の放射線増感作用が1974年に Hellman<sup>(9)</sup>らによって見出された。これは制癌剤としては細胞毒性が強すぎて使用できなかったものであるが、少量使用により放射線増感能が見出されたものである。しかし、この作用機構についてはよく分っていない。

Richmond<sup>(10)</sup>らはいくつかのプラチナのコンプレックスがバクテリアや細胞に対して放射線増感作用を示すことを1976年以降発表している。しかし、現在までに Misonidazole と同程度の増感能を持つこの種の化合物は見つかっていない。

今後も作用機構の異なる増感剤の研究開発の進展が期待されるが、作用機構が異なる増感剤を複合的に利用すれば効果が相乗的あるいは相加的に出ることも期待できる。

(註)

- (1) R. A. Philips and L. J. Tolmach, *Rad. Res.*, **29** 413 (1967)
- (2) A. J. Piro, C. C. Taylor and J. A. Belli, *Rad. Res.*, **62** 551 (1975)
- (3) S. Nakatsugawa and T. Sugahara, *The 6th International Congress of Radiation Research*, 1979 (東京)
- (4) S. Nakatsugawa and T. Sugahara, *Radiat. Res.*, **84** 265 (1981)
- (5) M. M. Elkind, G. F. Whitmore and T. Alescio, *Science*, **143** 1454 (1964)
- (6) K. C. George, M. A. Shenoy, D. S. Joshi, B. Y. Bhat, B. B. Singh and A. R. Gopal-Ayengar, *Br. J. Radiol.*, **48** 612 (1975)
- (7) M. A. Shenoy, K. C. George and B. B. Singh, *Int. J. Radiat. Biol.*, **28** 519 (1975)
- (8) S. Yonei, *Int. J. Radiat. Biol.*, **36** 547 (1979)
- (9) K. H. Hellman and E. Murkin, *Cancer*, **34** 1033 (1974)
- (10) R. C. Richmond and E. L. Power, *Radiat. Res.*, **68** 251 (1976)

## 七 おわりに

以上、放射線増感剤の研究の歴史を増感剤の開発とその作用機構を中心に述べた。筆者の不注意のために見落した研究もあると思われる。少なくとも、臨床的研究についての記述は全く不十分である。

増感剤研究は、Misonidazole のように臨床段階に入っているものもあるが、まだそれらの分子論的作用機構の解明のためになさねばならない部分は数多く残っている。さらに、新しい増感剤の検索も進みつつある。今後、ますます基礎的研究の重要性、とりわけ分子論、反応論レベルでの研究の重要性が増大するとともに、基礎研究と応用研究の密接な関り合いも大切になってくる。今日までの研究史を踏まえて新たな研究の飛躍が期待される。

なお、本論文で引用した文献は主として京都大学医学部附属図書館のものを利用させていただいた。ここに記して謝意を表する。