

JAERI-Research
2002-015



JP0250386



癌治療を目的とした新規放射線増感剤の開発

2002年8月

赤松 憲*・横谷 明德

日本原子力研究所
Japan Atomic Energy Research Institute

本レポートは、日本原子力研究所が不定期に公刊している研究報告書です。
入手の間合わせは、日本原子力研究所研究情報部研究情報課（〒319-1195 茨城県那珂郡東海村）あて、お申し越し下さい。なお、このほかに財団法人原子力弘済会資料センター（〒319-1195 茨城県那珂郡東海村日本原子力研究所内）で複写による実費頒布を行っております。

This report is issued irregularly.

Inquiries about availability of the reports should be addressed to Research Information Division, Department of Intellectual Resources, Japan Atomic Energy Research Institute, Tokai-mura, Naka-gun, Ibaraki-ken 〒319-1195, Japan.

© Japan Atomic Energy Research Institute, 2002

編集兼発行 日本原子力研究所

癌治療を目的とした新規放射線増感剤の開発

日本原子力研究所関西研究所放射光科学研究センター

赤松 憲*・横谷 明德

(2002年5月29日受理)

原子の放射線吸収断面積に着目した癌治療用新規放射線増感剤の探索・設計・合成を行い、その化学物質としての細胞毒性効果ならびにX線(100 kVp, W target)に対する放射線増感効果を調べた。なおこれらの評価にはヒト大腸癌細胞(LS-180)を用いた。2,3,4,5,6-pentabromobenzylalcohol (PBBA)誘導体は、試験可能な濃度範囲では増感効果は確認できなかったが、親水性の高いsodium 2,4,6-triiodobenzoate (STIB)に関しては、X線照射によって癌細胞殺傷作用が増強されることが明らかになった。さらに、膜損傷作用の増強を目的とした、細胞膜局在性放射線増感剤(cetyl FITC, cetyl Br-FITC, cetyl I-FITC)では、これらすべての物質の細胞膜集積性を共焦点レーザー顕微鏡にて確認した後、cetyl FITC, cetyl Br-FITCについて放射線増感効果を評価した。その結果、両者とも同程度の増感作用が認められた。

本報告では、放射線増感剤の化学合成法、細胞毒性評価、放射線増感効果について詳細に述べ、増感剤に求められる性質について考察する。

Development of Novel Radiosensitizers for Cancer Therapy

Ken AKAMATSU* and Akinari YOKOYA

Synchrotron Radiation Research Center
Kansai Research Establishment
Japan Atomic Energy Research Institute
Mikazuki-cho, Sayou-gun, Hyogo-ken

(Received May 29, 2002)

The novel radiosensitizers for cancer therapy, which have some atoms with large X-ray absorption cross sections, were synthesized. The chemical and radiation (X-rays, W target, 100kVp) toxicities and the radiosensitivities to LS-180 human colon adenocarcinoma cells were also evaluated. 2,3,4,5,6-pentabromobenzylalcohol (PBBA) derivatives were not radiosensitive even around the maximum concentration. On the other hand, the hydrophilic sodium 2,4,6-triiodobenzoate (STIB) indicated meaningful radiosensitivity to the cells. Moreover, the membrane-specific radiosensitizers, cetyl fluorescein isothiocyanate (cetyl FITC), cetyl eosin isothiocyanate (cetyl Br-FITC), cetyl erythrosin isothiocyanate (cetyl I-FITC), which aim for the membrane damage by X-ray photoabsorption on the target atoms, were localized in the plasma membrane. As the results of the colony formation assay, it was found that both cetyl FITC and cetyl Br-FITC are similarly radiosensitive.

In this report, we demonstrate the synthetic methods of the radiosensitizers, the evaluation of the chemical toxicity and the radiosensitizing effects, and discuss the nature of radiosensitizers for cancer therapy.

Keywords: Radiosensitizer, Cancer Therapy, X-rays, LS-180 Cell,

* Japan Society for the Promotion of Science

目 次

1. 緒言	1
2. 実験方法	2
2.1. 試薬	2
2.2. 細胞	2
2.3. X線照射	2
2.4. 官能基つき放射線増感剤の開発	2
2.4.1. PBBA-CMA について	3
2.4.2. PBBOA について	6
2.4.3. STIB について	7
2.5. 細胞膜局在性放射線増感剤の開発	7
2.5.1. Cetyl FITC の合成	8
2.5.2. Cetyl Br-FITC の合成	8
2.5.3. Cetyl I-FITC の合成	8
2.5.4. 細胞膜局在性放射線増感剤の細胞膜集積性の確認	8
2.5.5. 細胞膜局在性放射線増感剤の放射線増感試験 (WST-8 法)	9
2.5.6. 細胞膜局在性放射線増感剤の放射線増感試験 (コロニー形成法)	9
3. 結果と考察	9
3.1. CyD-PBBA-CMA の性質とその放射線増感効果	9
3.2. STIB の性質とその放射線増感効果	11
3.3. 細胞膜集積性放射線増感剤とその増感効果	11
4. 総括	11
参考文献	12

Contents

1. Introduction	1
2. Materials and Methods	2
2.1. Chemicals	2
2.2. Cell	2
2.3. X-ray Irradiation	2
2.4. Development of Radiosensitizers with Functional Groups	2
2.4.1. PBBA-CMA	3
2.4.2. PBBOA	6
2.4.3. STIB	7
2.5. Development of Membrane-specific Radiosensitizers	7
2.5.1. Synthesis of Cetyl FITC	8
2.5.2. Synthesis of Cetyl Br-FITC	8
2.5.3. Synthesis of Cetyl I-FITC	8
2.5.4. Membrane-specificity of the Cetyl Fluorescents	8
2.5.5. Radiosensitivity of the Cetyl Fluorescents (WST Method)	9
2.5.6. Radiosensitivity of the Cetyl Fluorescents (Colony Formation Method)	9
3. Results and Discussion	9
3.1. The Nature of CyD-PBBA-CMA and its Radiosensitivity	9
3.2. The Nature of STIB and its Radiosensitivity	11
3.3. The Nature of Cetyl Fluorescents and Their Radiosensitivities	11
4. Conclusion	11
References	12

1. 緒言

現在、癌の放射線療法は化学療法と外科療法との併用という形で臨床で行われている。特に薬剤耐性を獲得した癌やある種の固形癌など、化学療法で効果の期待できない場合に放射線療法は有効である。しかしながら化学療法と同様、放射線療法にも副作用があり、正常細胞への影響が強い場合、種々の合併症を生み出す危険性が指摘されている。これを回避するためには、より低線量でかつ高い細胞殺傷効果を得るための放射線増感剤、あるいは癌細胞選択性の高い照射法の開発が必要であろう。さらにはその両方を用いることで抗癌作用のシナジー効果も期待できるだろう。

現在研究されている放射線増感剤では、nitroimidazole 誘導体がよく知られている[1]。これらは酸素と同様、電子親和性の高い分子である。したがって、固形癌などの低酸素状態にある細胞に対しての放射線効果増強が期待されている。実際、多くの化合物で高い腫瘍抑制効果が認められている。しかしながら、副作用として、その化学物質としての毒性（特に神経毒性）が問題になっており、その副作用軽減のための分子設計も盛んに行われている。一方、放射線源では重粒子線の癌病巣選択性が注目されている。重粒子線は組織内でも比較的直線的に進むので、ブラッグピークの位置に粒子のエネルギーを集中的に沈積させることが可能である。したがって癌病巣の位置にブラッグピークの深さが一致するように、ビームのエネルギーを調節することで、選択性が得られるわけである。副作用の少ない画期的な治療法として脚光を浴びている[2]。

放射線癌治療の選択性を上げるもうひとつの方法は、増感剤に癌細胞選択性を付与することである。これには癌のミサイル療法などで用いられている抗癌細胞表面抗原抗体やヘマトポルフィリン誘導体[3]などを薬剤キャリアーとして用いる。実際、抗癌剤や短寿命放射性同位元素をこれらのキャリアー分子に化学結合させることで癌細胞選択性を上げている[4]。しかしながらこれらの選択性は十分とはいえず、研究段階に留まっている。癌細胞が自己の細胞由来であることが正常細胞との区別を困難にしていると考えられる。抗癌剤・放射性同位元素の正常細胞への移行は二次発癌のリスクを増大させる。

癌治療手段の問題点克服に必要なことを整理すると、①癌細胞あるいは癌病巣選択性の向上、②抗癌に用いる薬剤の毒性（発癌性）を下げる、③放射線増感剤として用いられる高電子親和性物質の化学毒性を下げる、の3点が挙げられる。②、③に関しては、薬剤の性格上、矛盾が生じる。①に関しては、癌細胞指向性キャリアーの開発が現状では不十分であるが、重粒子線のビームの選択性は前述のように十分あがっている。これらを考慮した場合、理想的な薬剤は「放射線エネルギーが付与されたときにのみ細胞殺傷作用を示し、それ自身の化学毒性は無視できる、あるいは重篤ではない化学物質」に限定されるであろう。

そこで我々が着目したのは、原子の放射線吸収断面積の違いである (Fig. 1) [5]。まず原子番号の大きい (放射線吸収断面積の大きい) 原子 (重元素) を癌細胞内部あるいは近傍に集積させ、癌病巣部位に放射線照射を行う。放射線エネルギー付与を受けた重元素が選択的に Auger 電子を数個放出するので細胞殺傷効果を高めることができる、という戦略である。最初の、重元素の癌細胞選択性は不十分でよく、その代わりにその重元素、あるいはそれを含む化合物が、化学物質として低毒性であればよい。

次に重元素の選択であるが、金属元素は一般に吸収断面積が大きく、当該目的には適しているが、癌細胞への選択性を付与しにくい。金属イオンを金属キレート剤と配位結合させて用いる方法が考えられるが、投与後癌部位に到達するまでにキレート剤から遊離する可能性が十分に考えられる。一方、ハロゲン族である Br、I は、比較的放射線吸収断面積が大きく、有機化合物にも安定に共有結合させることが可能である。キャリアーとなる有機化合物が、ある程度の癌細胞指向性を有しかつ低毒性であればよい。問題になるのは、放射線吸収断面積の差が、細胞殺傷作用の差として現れるかどうかである。いずれにしても最初に検討すべきは、Br、I などを含んだ有機化合物の設計である。キャリアーに化学結合させる場合を想定すると、その化合物は適当な官能基を有する必要がある。

本研究では、これら Br、I を含む有機化合物の設計、合成法、化学物質としての細胞毒性、放射線増感効果を調べたので報告する。

2. 実験方法

2.1. 試薬

Carboxymethoxylamine hemihydrochloride (CMA)、di-*t*-butyl dicarbonate ((BOC)₂O)、triethylamine (TEA)、triphenylphosphine (TPP)、tetrabromocarbon(CBr₄)、*t*-butyl-*N*-hydroxycarbonate、cetyl amine は和光純薬工業株式会社、過ヨウ素酸ナトリウム (NaIO₄) は関東化学薬品株式会社、 α 、 β 、 γ -cyclodextrin (α 、 β 、 γ -CyD) は東京化成株式会社、fluorescein isothiocyanate isomer I (FITC)、eosin isothiocyanate (Br-FITC)、erythrosin isothiocyanate (I-FITC) はフナコシ株式会社、pentabromobenzylalcohol (PBBA)、triiodobenzoic acid、diethylazodicarboxylate (AZO)、4 M HCl/1,4-dioxane はシグマアルドリッチジャパン株式会社、1,1'-carbonyldiimidazole (CDI) は Merck 株式会社から購入した。使用した他の溶媒・塩類などはすべて試薬特品を用いた。すべての試薬は再精製せずにそのまま用いた。細胞毒性試験キットは Cell Counting Kit-8 (株同仁化学研究所) を用いた。

2.2. 細胞

細胞毒性および放射線増感作用を調べるための細胞として、ヒト大腸癌細胞株 (LS-180) を選択し、大日本製薬株式会社から購入した。培地には Dalbecco 変法 minimum essential medium (DMEM) を 10 % fetal bovine serum (FBS) にて使用した。培養は 5 % CO₂ インキュベータ内にて 37 °C で行った。

2.3. X 線照射

X 線照射装置は、ソフテックス社製 M-150WE 型 (target: W) を用いた。線量測定には、東洋メディック社製 RAMTEC1000H 型イオンチェンバーを使用した。

2.4. 官能基つき放射線増感剤の開発

将来、適当な癌細胞指向性キャリアーに結合させることを目的とし、3種類の増感剤候補の合成を行った。

2.4.1. PBBA-CMA について

PBBA に CMA を化学結合させることでカルボニル基反応性を持たせることが可能である。CMA の O-アミノ基との Schiff's base 用の化学結合生成を期待するものである。PBBA-CMA のキャリアー分子としては、糖タンパク質の糖鎖が挙げられる。糖鎖を酸化剤で酸化することでアルデヒド基が生成するので、それを利用することが可能である。

2.4.1.1. PBBA-CMA の化学合成法 (Scheme 1)

2.4.1.1.1 CMA の O-アミノ基の保護 (CMA-BOC の合成)

1. 5.45 g CMA (50 mmol) と 6.35 g TEA (8.7 mL, 63 mmol) を 30 mL の超純水に加え攪拌した。・・・溶液①
2. 13.8 g (BOC)₂O (63 mmol) を 1,4-dioxane に溶解させた・・・溶液②
3. 溶液①を室温で攪拌しながら溶液②をゆっくり滴下した。
4. 滴下後数時間で白濁が消えるが、そのままさらに 48 時間攪拌しつづけた。
5. 反応終了後、反応液に超純水 120 mL を添加した。
6. 酢酸エチル 300 mL を三回に分けて用い、抽出操作を行った。油相 (上相) を回収した。
7. 水相 (下) を 0°C に冷却し、6 N・HCl にて pH を 2 にした。
8. 酢酸エチル 300 mL を三回に分けて用い、抽出操作を行った。油相 (上相) を回収した。
9. 操作 6 および 8 の酢酸エチル抽出液を合わせた (約 600 mL)。
10. 1 N-HCl (0°C) 300 mL を数回に分けて用い、酢酸エチル相を洗浄した。
11. 酢酸エチル相に無水硫酸ナトリウムを数 g 入れ、一晩放置した。
12. 硫酸ナトリウムをろ去し、ろ液をエバポレータで濃縮した。
13. 少量の酢酸エチルに残留物を溶解させ、石油エーテルで再結晶した (数日間 -20°C で静置)。
14. 結晶をろ取し、減圧乾燥させた。
15. 収量測定を行った (収率 84.7%)。

2.4.1.1.2. PBBA と CMA-BOC のカップリング法① (PBBA-CMA-BOC の合成)

1. 1.91 g CMA-BOC (10 mmol) を 3 つ口フラスコに入れ、減圧乾燥させた (一昼夜)。
2. 窒素気流下、フラスコに 10 mL 1,4-dioxane および 1.7 g AZO (10 mmol, 1.55 mL) を加えて室温で攪拌した・・・(溶液①、茶褐色)。
3. 別の三角フラスコに 5 g PBBA (10 mmol) と 2.62 g TPP (10 mmol) を入れ、乾燥 1,4-dioxane 100 mL にできる限り室温にて溶解させた・・・(溶液②)。
4. 窒素気流下、溶液①に溶液② (懸濁状態でもよい) を、ろうとを用いて静かに加えた (色が透明になる)。三角フラスコ底に残留している PBBA は 50 mL の 1,4-dioxane を用いて溶液①に加えた。
5. 一晩攪拌し、反応させた。
6. PBBA をできるかぎり反応させるために反応剤、AZO 0.2 mL および TPP 337 mg (1:1 mol/mol) をさらに加え、さらに 1 時間反応させた。

7. 反応液を 40℃で減圧濃縮し、シロップ状の残留物を得た。
8. 固化した残留物に diethylether を適量加え、激しく攪拌し、白色沈殿を得た (AZO および TPP の誘導体など)。一晚攪拌した。
9. 白色沈殿をろ去し、得たる液を 40℃以下で減圧濃縮した。4.6 g の残留物を得た (PBBA-CMA-BOC 粗生成物)。

2.4.1.1.3. PBBA と CMA-BOC のカップリング法② (PBBA-CMA-BOC の合成)

1. CMA-BOC 10 mmol (1.91 g)を三角フラスコに入れ、減圧乾燥させた。1 時間後フラスコ内を窒素置換し、さらに減圧乾燥した。
2. 1 の過程を 3 回繰り返す。最後に窒素置換し、窒素気流下、三角フラスコ内に 1,4-dioxane 40 mL と無水 acetone 40 mL を入れ、攪拌・溶解させ、系を 0℃に冷却した。
3. 窒素気流下、CDI 2 g (1.2 mmol)を添加し、溶解させた (imidazole がすぐに析出)。
4. 0℃で約 1 時間攪拌、反応させた。
5. 窒素気流下、0℃に冷却した 20 mL 1,4-dioxane/40 mL acetone 混合溶媒を反応系に加え、よくすりつぶした PBBA 5 g (10 mmol)を少しずつ添加し、激しく攪拌した (全部は溶けなくてよい)。
6. 窒素気流下、0℃で 4 時間、室温で 48 時間反応させた。
7. 溶媒を 40℃以下で減圧留去した。
8. 残渣に 100 mL 1,4-dioxane を加え、白色不要物をろ去した。ろ液を減圧濃縮した。
9. 8 の残渣に水を適量添加し分散させた。これをろ取し、減圧乾燥させた (粗生成物)。

2.4.1.1.4. PBBA-CMA-BOC の脱 BOC

1. PBBA-CMA-BOC の粗生成物 0.9 g を 4 N HCl/1,4-dioxane 15 mL に溶解させた。溶解後、まもなく溶液が白濁し始めた。20 分間攪拌した。
2. 生成した沈澱をろ取し、diethylether で洗浄後、減圧乾燥させた (PBBA-CMA-HCl:0.31 g)。¹H-NMR (Fig. 2)、¹³C-NMR (Fig. 3)、FAB (fast atom bombardment)-MS (Fig. 4) により生成物の確認を行った。これらの分析はニッテクリサーチ社に依頼して行った。

2.4.1.2. PBBA-CMA-HCl の物性と水溶性の向上

分子式: $C_9H_7O_3NBr_5Cl$ (F.W.: 612.136)

物性: 1. DMSO に比較的良好に溶けるが、溶液を静置すると徐々に沈澱を生じる。

2. 水に難溶性である。

3. diethylether, 1,4-dioxane, ethanol, acetone, methylenechloride などの主要な有機溶媒にはほとんど溶けない。

水への溶解度が非常に低く、放射線増感剤としては不向きである。そこで、溶解度を上げるために、CyD 包括法を検討した。

α, β, γ -CyD をそれぞれ用いて、水溶性付与の程度を調べた。20 μ mol の各 CyD (20, 22, 26 mg)

を 15 mL 水に溶解させ、10 μmol の PBBA-CMA-HCl (6 mg) を添加し、軽く超音波処理して細粒化させた。その結果、環の一番大きい γ -型の CyD を用いたもののみ、透明度が最も高く水溶性の改善が認められた (CyD-PBBA-CMA)。

2.4.1.3. γ -CyD の毒性試験

CyD 類には溶血活性があることが知られている[6]。したがって、CyD の界面活性化作用などにより細胞膜不安定化を経て毒性を呈する可能性がある。そこで、細胞内 dehydrogenase による tetrazolium 塩 (WST-8) 還元能を指標にした毒性試験 (Cell Counting Kit-8 使用、WST-8 assay) を行った。

試験法：

1. 細胞 (LS-180) の 4×10^5 cells/mL DMEM (FBS 10%) 懸濁溶液を作成し、50 μL ずつ 96 穴プレート (縦 8 穴 \times 横 12 穴) に播種した (2×10^4 cells/well、但し最右列は blank)。5% CO_2 インキュベータ (37°C) で 24 時間培養した。
2. γ -CyD 1 mg/mL DMEM (FBS(-)) を 10 mL 作成し、ろ過滅菌した。
3. 2 の γ -CyD 溶液を用いて、1, 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128, 256, 512 倍希釈した溶液を 1 mL ずつ作成した。希釈は滅菌済 DMEM (FBS(-)) で行った。
4. 3 で調整した各 γ -CyD 溶液を 50 μL ずつ、各列 (8 well) に入れた (右 2 列目は原液 (1/1)、左 2 列目は (1/512) となる)。プレートを軽くたたいて均一溶液にした。
5. 5% CO_2 インキュベータ (37°C) でさらに 3 日間培養した。
6. Cell Counting Kit のマニュアルにしたがって、WST-8 assay を行った。

2.4.1.4. CyD-PBBA-CMA の毒性試験

基本操作は 2.4.1.3 に準じた。PBBA-CMA-HCl の原液は 0.2 mg/mL DMEM (FBS(-)) に調整した。溶解補助剤として γ -CyD を PBBA-CMA-HCl の 2 倍当量添加した。

2.4.1.5. CyD-PBBA-CMA の放射線増感試験

1. 6 穴プレート 4 枚に LS-180 細胞を播種し (5×10^5 cells/well)、5% CO_2 インキュベータ (37°C) で 5 日間培養した (confluent になるまで)。
2. PBBA-CMA-HCl 2 mg および γ -CyD 20 mg をリン酸等張緩衝液 (PBS(-)) 10 mL に溶解させ (0.2 mg/mL PBBA-CMA-HCl 原液) ろ過滅菌し、滅菌済 PBS(-) を用いて 1, 2, 4, 8, 16 倍希釈の液を 5 mL ずつ作成した。
3. プレートから培地を吸引し、PBS(-) で 2 回洗浄した。
4. プレート一枚にそれぞれの濃度の CyD-PBBA-CMA を 1 mL ずつ入れた。ひとつは PBS のみ 1 mL を添加した。これを 4 枚作成した。
5. プレート 3 枚をそれぞれ、2, 5, 10 Gy (1 Gy/min, 100 kVp, 3 mA) 照射した。照射はターンテーブルの上で回転させながら行った。一枚は照射せず、10 分間室温で放置した。他のプレートも薬液接触合計時間が 10 分になるようにした。
6. 薬液を吸引除去し、PBS(-) で 2 回洗浄した。

7. 0.25% trypsin/1 mM EDTA/PBS(-) 1 mL を各 well に入れ、細胞を分散させた。
8. 10 Gy のものは 50,000 cells/well、5 Gy のものは 10,000 cells/well、残りは 1,000 cells/well ずつ、それぞれ 6 穴プレートを用いて 3 well ずつ播種した。
9. 6 日に一回、培地を交換した。
10. 1 ヶ月後、コロニーアッセイを行った。

2.4.2. PBBOA について

PBBA-CMA-HCl の水溶性改善策として、CMA を用いないで直接 PBBA に O-アミノ基を導入する方法を考えた (PBBOA)。PBBOA は PBBA-CMA-HCl と同様、aldehyde や ketone と容易に化学結合させることができる。

2.4.2.1. PBBOA の合成法 (Scheme 2)

2.4.2.1.1. PBBA-Br の合成

1. PBBA 2 g (4 mmol) を三角フラスコに入れ乾燥 benzene 100 mL を加えて窒素気流下、還流した。
2. 系に TPP 1.26 g (4.8 mmol) および CBr₄ 2 g (6 mmol) を添加した。
3. 2 時間還流後、反応液をろ過し沈澱を除去した。
4. ろ液を減圧濃縮し黄色残渣に ethanol を適量添加した。
5. 白色沈澱をろ取り、ethanol で洗浄、さらに diethylether 洗浄、減圧乾燥させた (PBBA-Br)。

2.4.2.1.2. PBBOA-BOC の合成

1. PBBA-Br 0.68 g および *t*-butyl-*N*-hydroxycarbonate 0.19 g (1.2 当量) を三口フラスコに入れ、窒素置換した。
2. 無水 tetrahydrofuran (THF) 20 mL を加え、溶解後、NaH 43 mg (1.5 当量) を添加した。窒素気流下、室温で一晩反応させた。
3. 反応液を減圧濃縮し、シロップ状の黄色固体を得た。THF を少量添加し、溶解したら水を 20 mL 程度加えた (シロップが再び析出した)。
4. 減圧濃縮して THF を蒸発させた。黄色固体を得た (黄色の上精が残った)。
5. 上精をデカントで除去し、黄色固体をさらに水で洗浄した。最後に ethanol で洗浄すると、白色固体が残った。
6. 残渣の白色固体を減圧乾燥させた (PBBOA-BOC)。

2.4.2.1.3. PBBOA-BOC の脱保護

1. 380 mg PBBOA-BOC に 2 mL 4N HCl/1,4-dioxane を加え、軽く攪拌し、室温で 2 時間放置した。生成した沈澱を 1,4-dioxane で洗浄し、さらに diethylether で洗浄、減圧乾燥させた (PBBOA-HCl)。

IV-3 STIB (Sodium 2,4,6-triiodobenzoate) について

STIB は放射線増感効果が期待できるヨウ素を 1 分子内に 3 つ有し、またカルボキシル基によ

り、アミノ基などと容易に化学結合させることができる。PBS(-)に対する溶解度は CyD-PBBA-CMA の 100 倍以上である。

2.4.3. STIB について

2.4.3.1. STIB の合成法 (Scheme 3)

2,4,6-triiodobenzoic acid 5 g (0.01 mol) に 1 N NaOH 10 mL と水 60 mL を加えて、70°C 湯浴で放置した。水がほとんど蒸発した後、diethylether で洗浄・乾燥させた (STIB)。

2.4.3.2. STIB の放射線増感試験 (WST-8 法)

1. 96 穴プレート 10 枚に LS-180 cell を 5000 cells/well 播種し、2 日間 5% CO₂ インキュベータ (37°C) で培養した。
2. 照射は 0, 5, 10 Gy、STIB 濃度は 0, 5, 10 mM/PBS(-)、各データ点あたり 3 well 使用できるよう、プレートを使用した。鉛板でプレートを覆うことにより照射時間を調節した。
3. 各 well に 50 μ L づつ薬液を入れ、照射を行った (2 Gy/min, 100 kVp, 6 mA)。薬液との曝露時間は 10 min を超えないようにした。
4. 薬液を吸引除去し、100 μ L PBS(-) で一回洗浄した。
5. 新しい培地を 100 μ L 入れ、さらに 7 日間培養した。
6. Cell Counting Kit-8 で WST-8 assay を行った。

2.4.3.3. STIB の放射線増感試験 (コロニー形成法)

1. LS-180 細胞を 60 ϕ dish 15 枚に播種し (5 \times 10⁵ cells/well)、5% CO₂ インキュベータ (37°C) で数日間培養した (confluent になるまで)。
2. STIB の 0, 3, 6 mM/PBS(-) 溶液を作成し、ろ過滅菌した (1 mL/dish)。
3. Confluent になった dish の培地を吸引除去し PBS(-) で一回洗浄した。
4. STIB 溶液を 1 mL づつ dish に入れ、それぞれ 20 分放置してから X 線照射した。
5. X 線照射は 0, 2, 5, 10 Gy (2 Gy/min) で行った。
6. 照射後、STIB 溶液を吸引除去し、PBS(-) で一回洗浄した。
7. 0.25% trypsin/1 mM EDTA/PBS(-) を用いて、細胞を分散させた。
8. コロニーアッセイを行った。

2.5. 細胞膜局在性放射線増感剤の開発

最近の研究では、放射線によるアポトーシスが細胞膜損傷によっても引き起こされることがわかっている [7]。したがって細胞膜近傍で放射線増感剤が作用することにより、細胞死を誘導できるかもしれない。癌細胞は p53-deficient である場合が多いので、DNA 損傷からのアポトーシスは期待しにくい。膜損傷由来のアポトーシス経路は健在している可能性がある。そこで、細胞膜局在性放射線増感剤を設計した。この化合物は、細胞膜親和性のドメインとして、hexadecyl (cetyl) 基を有し、また細胞膜局在化の確認のために fluorescein を分子内に有している。

fluorescein に Br, I がそれぞれ 4 つ結合した、eosin および erythrosin が増感ドメインになっている。コントロールとして fluorescein に cetyl 基を導入したものも含めて 3 種類作成した (Fig. 5)。

2.5.1. cetyl FITC の合成 (Scheme 4)

1. FITC 50 mg (0.12 mmol) と、1.2 当量の cetyl amine をバイアルに入れ、10 mL ethanol に溶解させた。
2. 1 の反応液に触媒として triethylamine を 5 滴落とし、室温で攪拌、反応させた。
3. 7 時間反応させた後、*n*-hexane 20 mL を添加し、静置した。
4. 沈澱をろ取り、*n*-hexane で洗浄、乾燥させた (cetyl FITC)。

2.5.2. cetyl Br-FITC の合成 (Scheme 4)

1. Br-FITC 50 mg (0.071 mmol) を 20 mL 容積の褐色バイアルに入れ、methanol 20 mL に溶解させた。
2. Cetyl amine を 1.2 当量 (20.6 mg) を加え、triethylamine を 5 滴落とし、室温で攪拌、反応させた。
3. 一晩反応させた後、*n*-hexane 40 mL を添加し、静置した。
4. 沈澱をろ取り、*n*-hexane で洗浄、乾燥させた (cetyl Br-FITC)。

2.5.3. cetyl I-FITC の合成

1. I-FITC 50 mg (0.056 mmol) を 20 mL 容積の褐色バイアルに入れ、methanol 20 mL に溶解させた。
2. Cetyl amine を 1.2 当量 (16.2 mg) を加え、triethylamine を 5 滴落とし、室温で攪拌、反応させた。
3. 一晩反応させた後、*n*-hexane 40 mL を添加し、静置した。
4. 沈澱をろ取り、*n*-hexane で洗浄、乾燥させた (cetyl I-FITC)。

2.5.4. 細胞膜局在性放射線増感剤の細胞膜集積性の確認

cetyl FITC, cetyl Br-FITC, cetyl I-FITC の LS-180 細胞膜への集積性を共焦点レーザー顕微鏡 (Bio-Rad 社製、R2000/AGR-3 型) にて確認した (Fig. 6)。

1. 各薬剤の DMSO 溶液を作成し (それぞれ 5.6, 8.3, 10 mg/mL: 15.7 mM)、ガラスウールを用いて不溶物をろ去した。LS-180 細胞分散液 5 mL (1×10^6 cells/mL DMEM(FBS(-))) に各薬剤溶液を 1 滴添加し、軽く攪拌した。
2. 遠心分離して上清を吸引除去し、DMEM(FBS(-)) で 2 回洗浄した。最後に DMEM(FBS(-)) 5 mL で suspend した。
3. 2 で作成したサンプル溶液 1 滴をプレパラートに滴下し、カバーグラスを乗せた。
4. カバーグラスの縁をマニキュアで封じ、共焦点レーザー顕微鏡で観察した (励起波長: 488.514 nm, Argon laser)。

2.5.5. 細胞膜局在性放射線増感剤の放射線増感試験 (WST-8 法)

合成した三種類の細胞膜局在性放射線増感剤、cetyl FITC, cetyl Br-FITC, cetyl I-FITC の細胞毒性を調べた。

1. 96 穴プレート 3 枚に LS-180 cell を 5000 cells/well 播種し、5 日間 5% CO₂ インキュベータ (37°C) で培養した。
2. 各薬剤の DMSO 溶液を作成し (それぞれ 5.6, 8.3, 10 mg/mL: 15.7 mM)、ガラスウールを用いて不溶物をろ去した。3 mL の PBS(-) に DMSO 溶液 100 μ L を入れ攪拌した (cetyl I-FITC はほとんど不溶)。これらを薬剤原液とした。
3. 照射は 0, 1, 2, 5, 10 Gy、薬液は PBS(-) のみ、薬剤原液の 2 倍希釈液で行えるよう、96 穴プレートを区分した。データ点あたり 4 穴使用した。
4. 各穴あたり 100 μ L となるように薬剤溶液を入れ、10 分間静置した。
5. 薬液を吸引除去し、PBS(-) で洗浄した後、照射を行った (2 Gy/min, 100 kVp, 6 mA)。
6. 照射後すぐに新しい培地を 100 μ L 入れ、24 時間培養した。
7. Cell Counting Kit で WST-8 assay を行った。

2.5.6. 細胞膜局在性放射線増感剤の放射線増感試験 (コロニー形成法)

Cetyl I-FITC については、溶解度が極端に低いので他の 2 種類、cetyl FITC および cetyl Br-FITC の増感効果を評価した。

1. 60 ϕ dish 12 枚に LS-180 細胞 1×10^6 個を播種し、confluent になるまで培養した。
2. Cetyl FITC および cetyl Br-FITC 溶液をそれぞれ 28, 42 μ g/mL 5% DMSO/PBS(-) となるように作成し、ろ過滅菌した。
3. 1 の dish 3 枚を取り出し、培地を吸引除去した。
4. 各薬液を 1 mL 入れ、2 分間静置した。
5. 薬液を吸引除去し PBS(-) 1 mL を添加し、照射を行った (2 Gy/min)。
6. 3 - 5 の項目を 0, 1, 2, 5 Gy/min でそれぞれ行った。
7. 照射終了後直ちに、細胞を 0.25% trypsin-1 mM EDTA/PBS(-) で分散させた。
8. それぞれの細胞分散液を遠心分離し、2 mL の培地に交換して suspend した。
9. 8 で作成した細胞分散液を用いてコロニーアッセイを行った。

3. 結果と考察

3.1. CyD-PBBA-CMA の性質とその放射線増感効果

最初に合成した PBBA-CMA-HCl は水溶性が非常に低く、放射線増感剤としては不向きであった。そこで CyD 包括法による水溶性改善を試みた。CyD の内部は疎水性なので、疎水性の強い有機物を取り込む性質があることが知られている (host-guest complex) [8]。一方、外側は水酸基が出ており親水性が高くなっている。この方法は、実際に抹消循環不全などの治療薬として上市されている Prostaglandin E₁ 製剤にも応用されている [9]。

CyD 類は主に 3 種類が知られており、 α -glucose 単位の数で α -, β -, γ -CyD (それぞれ 6, 7, 8 員

環)と呼ばれている。PBBA·CMA·HCl がどの CyD と親和性が高いかを調べた結果、 γ -CyD であることがわかった。水への溶解度は 0.3 mM 程度まで増加した。PBBA·CMA·HCl の PBBA 部分が γ -CyD に包括されると仮定した場合、2,6位あるいは3,5位の benzyl 炭素に結合している Br 間の、van der Waals 半径を考慮した距離は 7.58 Å である(但し、benzene 炭素間距離を 1.39、bromobenzene 炭素間距離を 1.85、Br の van der Waals 半径を 1.14 Å とした)。 γ -CyD の内径はおよそ 8 Å であるから、PBBA 部分全体を取り込みうる性質を γ -CyD は有しているといえる。他の 2 つの CyD では、仮に PBBA·CMA·HCl と complex を作りえたとしても、CMA 部分を取り込むことしかできなかつたのであろう。

γ -CyD によって PBBA·CMA·HCl の水溶性改善が可能であることはわかったが、放射線増感剤としての機能を考慮した場合、PBBA による放射線エネルギー吸収を γ -CyD が妨げてしまう可能性が十分に考えられる。そこで、 γ -CyD を用いずに水溶性を増加させることを目的とし、PBBA に直接 O-アミノ基を導入する方法を考えた。

合成した化合物、PBBOA は、PBBA·CMA·HCl と同様そのままではほとんど水溶性がなく、 γ -CyD と包括させても水溶性は 0.1 mM 未満にとどまり、 γ -CyD·PBBA·CMA のそれよりむしろ低かつた。

以上の PBBA 誘導体の物性評価により、増感剤の毒性試験および放射線増感試験は CyD·PBBA·CMA で行った。

Fig. 7 は γ -CyD および CyD·PBBA·CMA の急性毒性を評価したものである。結果としては、試験した濃度範囲内では毒性はないといえる。ただし生細胞内の dehydrogenase の酵素活性を評価基準としているので、当該酵素活性に影響しない毒性の有無については不明である。形態的变化はいずれの濃度でも認められなかつた。

Fig. 8 は CyD·PBBA·CMA の放射線増感効果をコロニー形成法で評価した結果である。Fig. 8A は線量に対するコロニー形成率、Fig. 8B は同じデータの CyD·PBBA·CMA 濃度に対するコロニー形成率である。放射線増感作用は、グラフ A の傾きから判断できるが、いずれの濃度でも傾きはほぼ等しく、増感作用は認められなかつた。Fig. 8B において、増感剤濃度によるコロニー形成率の変動がすべての線量において認められたが、変動のパターンはいずれの線量でもおおよそ同じで、放射線によるコロニー形成能の低下はその変動に相加的に上乗せされているようである。増感剤濃度によるコロニー形成率変動の原因は不明だが、 γ -CyD と PBBA·CMA·HCl の complex 形成が 1 : 1 とは限らず、濃度によっては 2 : 1 になる可能性を考慮した場合[10]、complex の細胞膜との相互作用や細胞内取り込み速度などは明らかに変動するだろう。濃度が低いところではフリーの PBBA·CMA·HCl や 1 : 1 の complex が主に存在するが、徐々にあるいは非線形に 2 : 1 complex へ変化し、細胞膜を通過しにくくなったともいえる。CyD·PBBA·CMA の放射線増感効果は、試験した濃度範囲では認められなかつたが、さらに高濃度であればその効果が確認できるかもしれない。しかしながら、CyD·PBBA·CMA は最大で 0.3 mM であり、均一溶液で行った本実験では、増感効果が確認できるまでには至らなかつたといえる。そのためには、PBBA·CMA·HCl の O-アミノ基を用いて、キャリアー分子と結合させるなどの方法で、細胞の核内や膜に PBBA を局在化させる必要があるだろう。

3.2. STIB の性質とその放射線増感効果

CyD-PBBA-CMA に放射線増感作用が認められなかった理由のひとつとして、水溶性の低さが挙げられた。そこで別の増感剤候補として sodium 2,4,6-triiodobenzoate (STIB) を作成した。この化合物の PBS(-) への溶解度を調べた結果、CyD-PBBA-CMA よりも 2 桁高いことがわかった (~70 mM)。また I は $10^3 \sim 10^4$ eV のエネルギー領域のほとんどで Br よりも吸収断面積が大きい (Fig.1)。しかしながら、STIB は 10 mM を超えたあたりから急に毒性が現れてくるので (データは示していない)、放射線増感試験は 10 mM 以下で行った。まず最初に dehydrogenase 活性測定法で増感評価を行った (Fig. 9)。Fig. 9B は、線量の高いところ (5, 10 Gy) で、傾きが大きくなっていることがわかる。これは、STIB の放射線増感効果と考えられる。しかしながら、実験誤差範囲ともいえるので、さらにコロニー形成法で評価した (Fig.10)。グラフの様子は Fig. 9 の場合と類似しているが、放射線増感効果の存在はより明確になったといえるであろう。

以上の評価により、STIB に限らず、吸収断面積の違いを生かした放射線増感剤が効果を発揮するためには、薬剤としてはかなりの高濃度が必要といえるだろう。また、DNA や膜脂質など生体分子への局在性も重要である。

3.3. 細胞膜集積性放射線増感剤とその増感効果

STIB で放射線増感効果が確認できたが、10 mM 程度の高濃度が必要であった。そこで、細胞膜での過酸化を効率よく生じさせることを目的として、Br や I を細胞膜近傍に集中させる方法を考えた。運良く、FITC に Br あるいは I が 4 つ結合した化合物 (それぞれ eosin isothiocyanate (Br-FITC), erythrosin isothiocyanate (I-FITC)) が市販されているので、それに octadecyl (cetyl) amine を結合させれば、目的を達成できると期待した。

LS-180 細胞膜への cetyl FITC, cetyl Br-FITC, cetyl I-FITC の集積性を共焦点レーザー蛍光顕微鏡にて観察した結果、いずれも細胞膜に局在化していることがわかった (Fig.6)。まず dehydrogenase 活性を指標にそれぞれの放射線増感効果を観察した。増感剤で細胞を処理した後、フリーの増感剤は除去して評価を行った。cetyl FITC, cetyl Br-FITC, cetyl I-FITC のいずれも膜への影響が原因と考えられる毒性が現れた (Fig. 11)。ただし cetyl I-FITC は培養の途中で一部析出したので、析出がなければさらに毒性があったかもしれない。増感効果は認められなかった。

次にコロニー形成法を行った。cetyl I-FITC に関しては上記析出性により評価からはずした。試験の結果、cetyl FITC および cetyl Br-FITC の両方において放射線増感活性が確認できた (Fig.12)。しかしながら、両者の活性は同程度であった。したがって cetyl Br-FITC の増感効果は Br への光子吸収に起因するとはいえない。おそらく、これらの膜局在性物質により脂質二重膜の安定性が低下し、それに放射線作用が相まって増感作用につながったと考えられる。

4. 総括

癌治療を目的とした放射線増感剤を CyD-PBBA-CMA, PBBOA, STIB, cetyl FITC, cetyl Br-FITC, cetyl I-FITC の 6 種類開発した。そのなかで増感効果が確認できた化合物は、STIB、cetyl FITC、cetyl Br-FITC の 3 種類であった。さらにそのなかで吸収断面積の大きさが増感効

果に反映されたのは STIB のみであった。濃度も 10 mM は最低必要であり、STIB はそのままの形では増感剤としての実際的な効果を発揮できるとはいえない。PBBA, PBBOA, STIB のいずれの化合物においても、それぞれの官能基を利用して DNA など細胞内の構造体近傍に集中させる必要があるだろう。細胞膜集積型の cetyl 化合物は、Br による増感効果こそ認められなかったが、膜不安定化と放射線効果の相乗効果が確認された。放射線吸収断面積の大きさを考慮した増感剤は更なる分子設計が必要であるが、膜不安定化を起こさせる薬物によって、放射線作用が相乗的に増感されるという結果は、癌放射線治療にとって非常に重要な知見といえる。

参考文献

- [1] I. F. Tannock and R. P. Hill 著、谷口直之 監訳：“がんのベーシックサイエンス”、メディカル・サイエンス・インターナショナル、東京、305 (1993)。
- [2] I. F. Tannock and R. P. Hill 著、谷口直之 監訳：“がんのベーシックサイエンス”、メディカル・サイエンス・インターナショナル、東京、272、308 (1993)。
- [3] I. F. Tannock and R. P. Hill 著、谷口直之 監訳：“がんのベーシックサイエンス”、メディカル・サイエンス・インターナショナル、東京、265、387 (1993)。
- [4] 橋田 充：“ドラッグデリバリーシステム”、化学同人、京都、102 (1995)。
- [5] B. L. Henke et al.: At. Data Nucl Data Tables, 54, 181 (1993).
- [6] T. Irie et al.: J. Pharm. Dyn., 5, 741 (1982).
- [7] A. Haimovitz-Friedman et al.: J. Exp. Med., 180, 525 (1994).
- [8] 戸田不二緒 監修、上野昭彦 編：“シクロデキストリン”、産業図書、東京、1 (1995)。
- [9] 日本医薬情報センター 編：“日本医薬品集”、薬事時報社、東京、94 (1996)。
- [10] K. Uekama and M. Otagiri: CRC Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst., 3, 11 (1987).

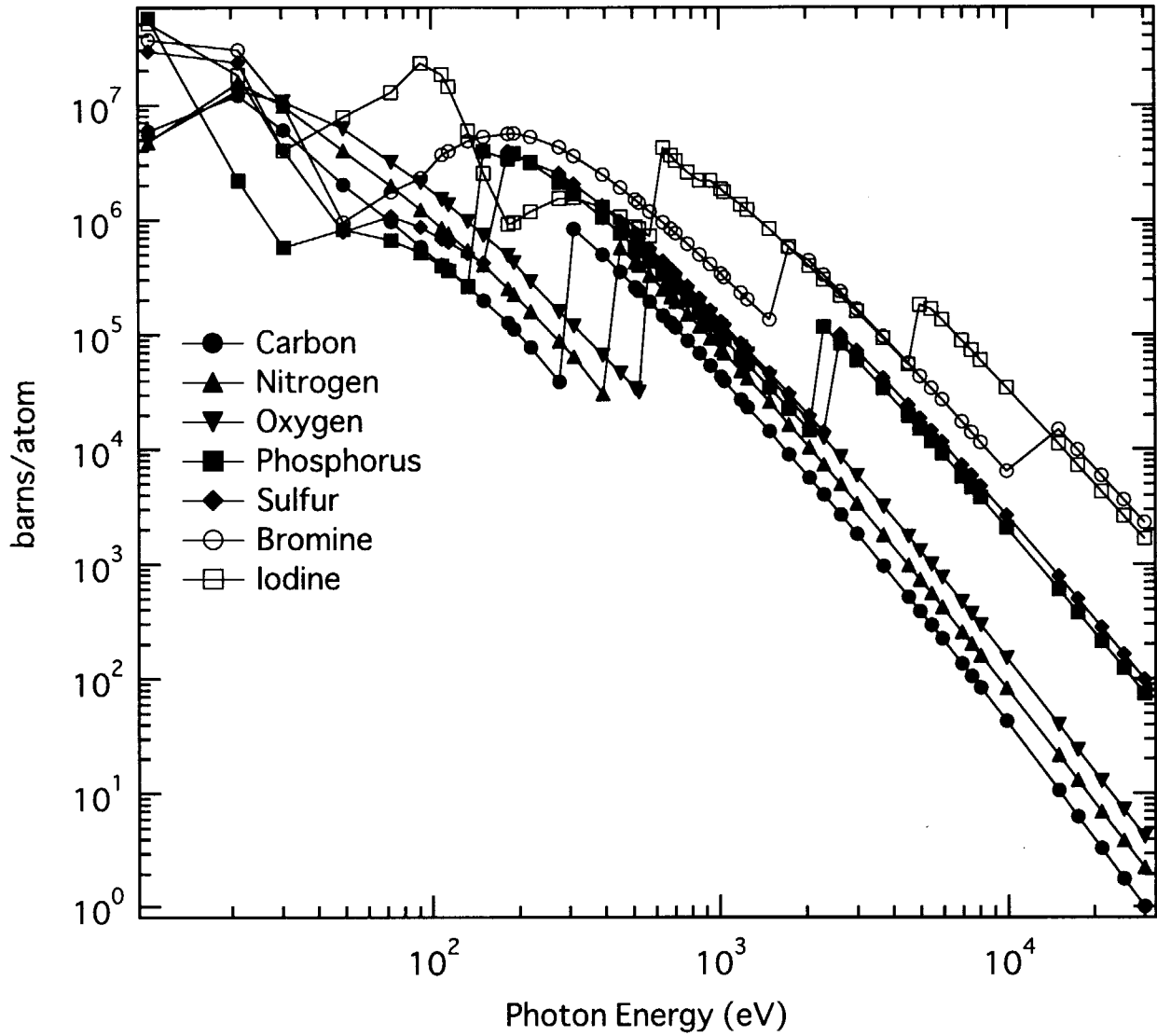


Fig. 1. X-ray absorption cross sections of light atoms in biological molecules and some heavy atoms useful for radiosensitizer [5].

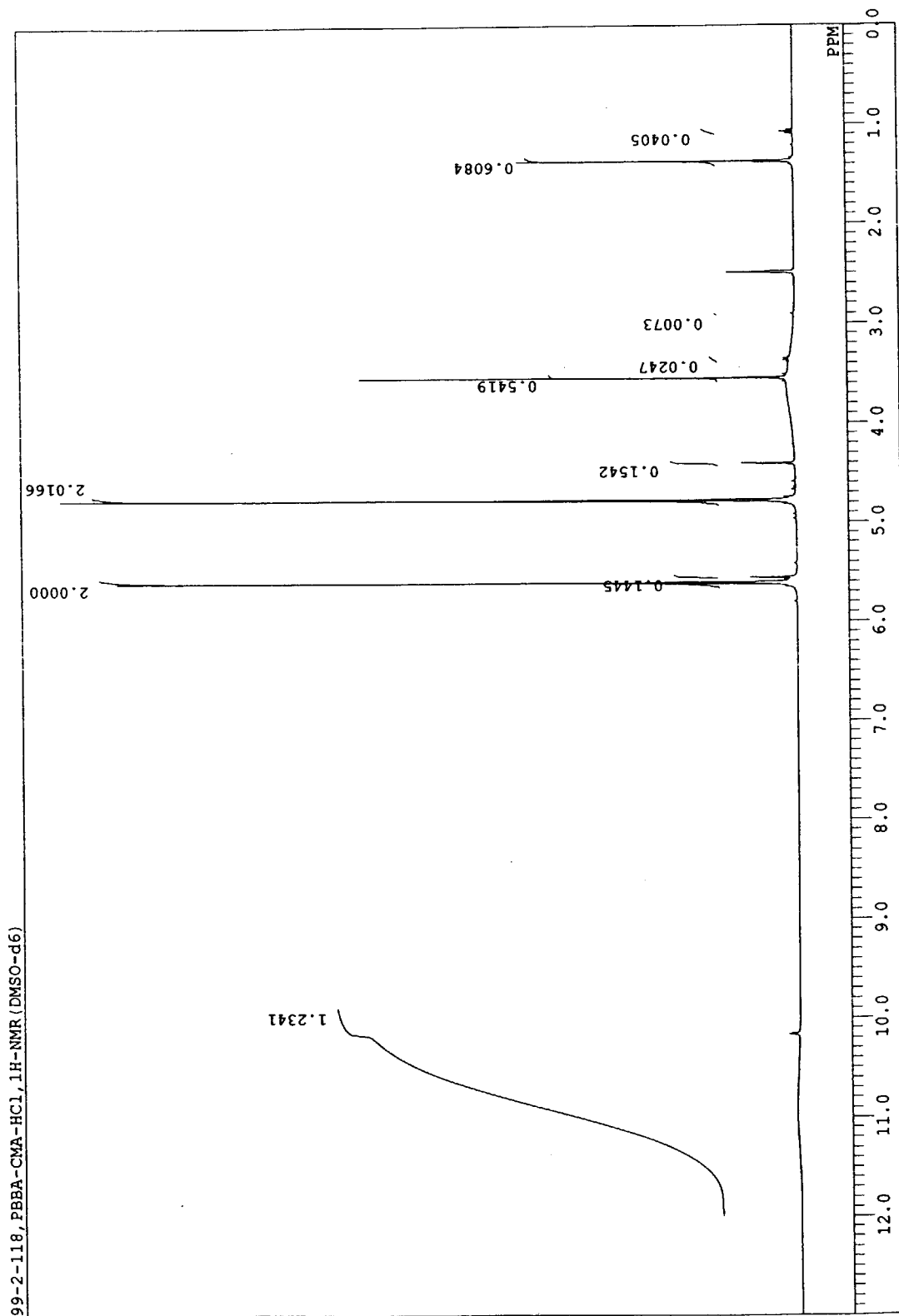


Fig. 2. ¹H-NMR spectrum of PBBA-CMA-HCl.

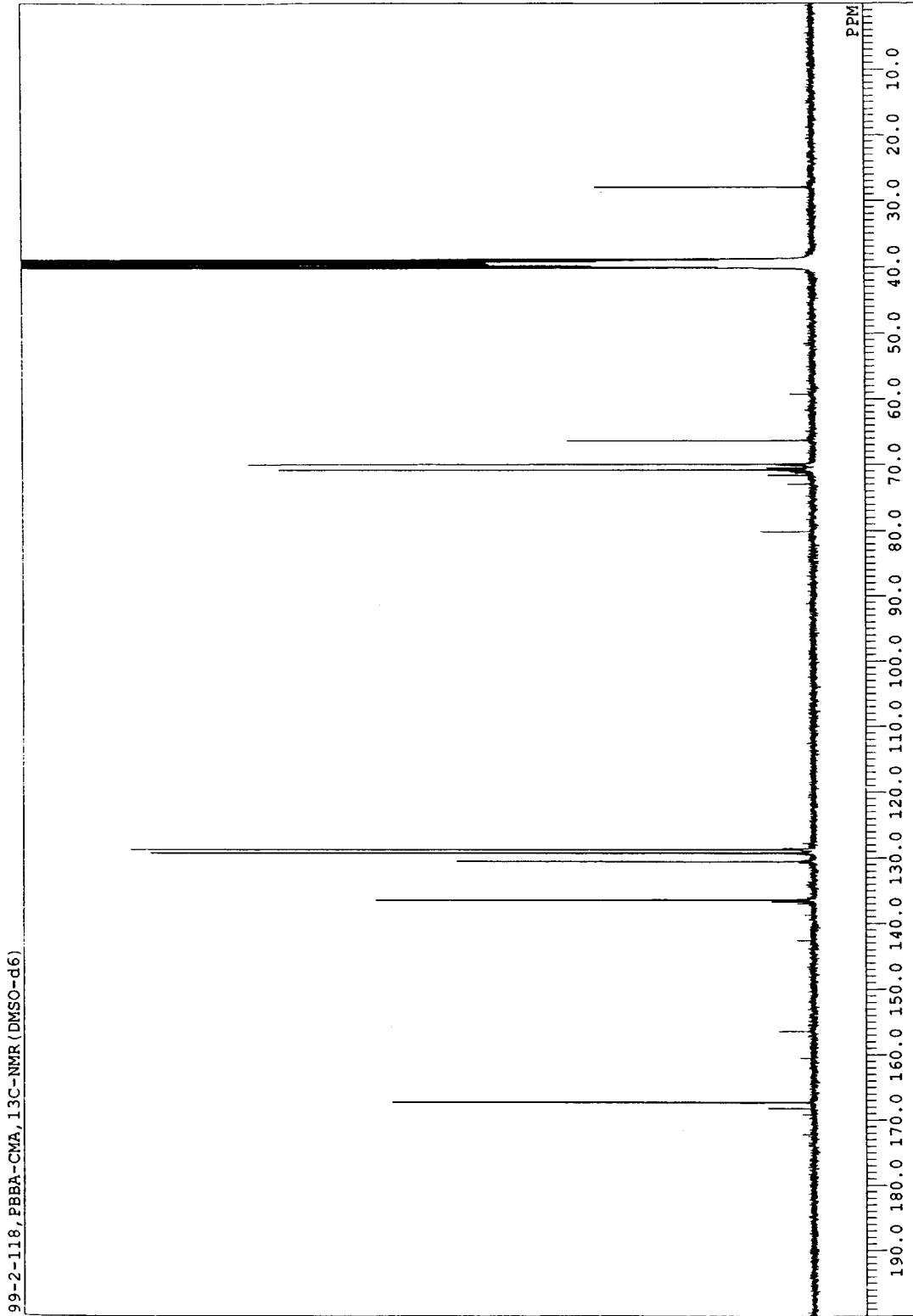


Fig. 3. ^{13}C -NMR spectrum of PBBA-CMA-HCl.

MASS SPECTRUM Data File: 200118.DAT;15 28-APR-99 15:17
Sample: PBBA-CMA
RT 0.48" FAB(Pos.) GC 3.1c BP: m/z 186.0000 Int. 21.2510 Lv 0.00
Scan# (3 to 8)

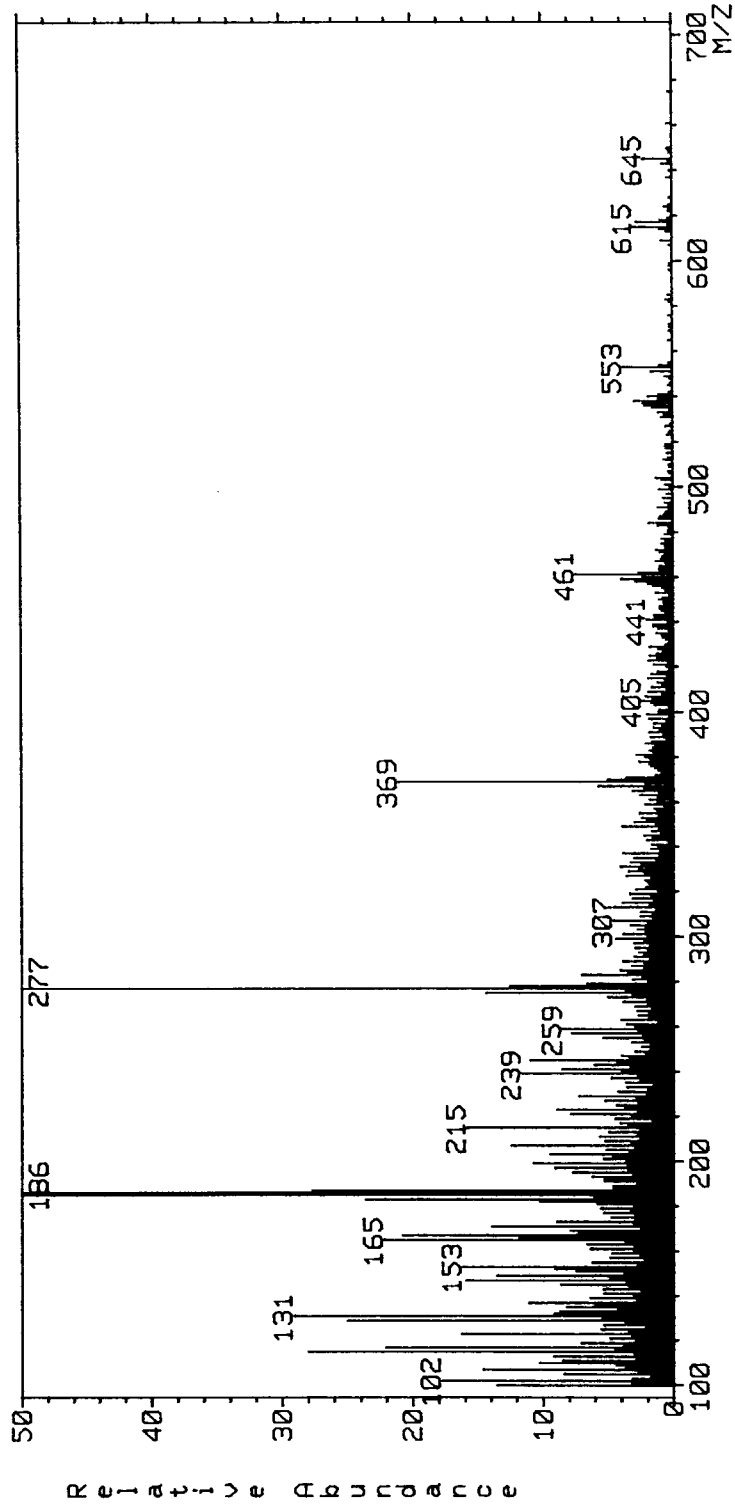


Fig. 4. FAB-MASS spectrum of PBBA-CMA-HCl.

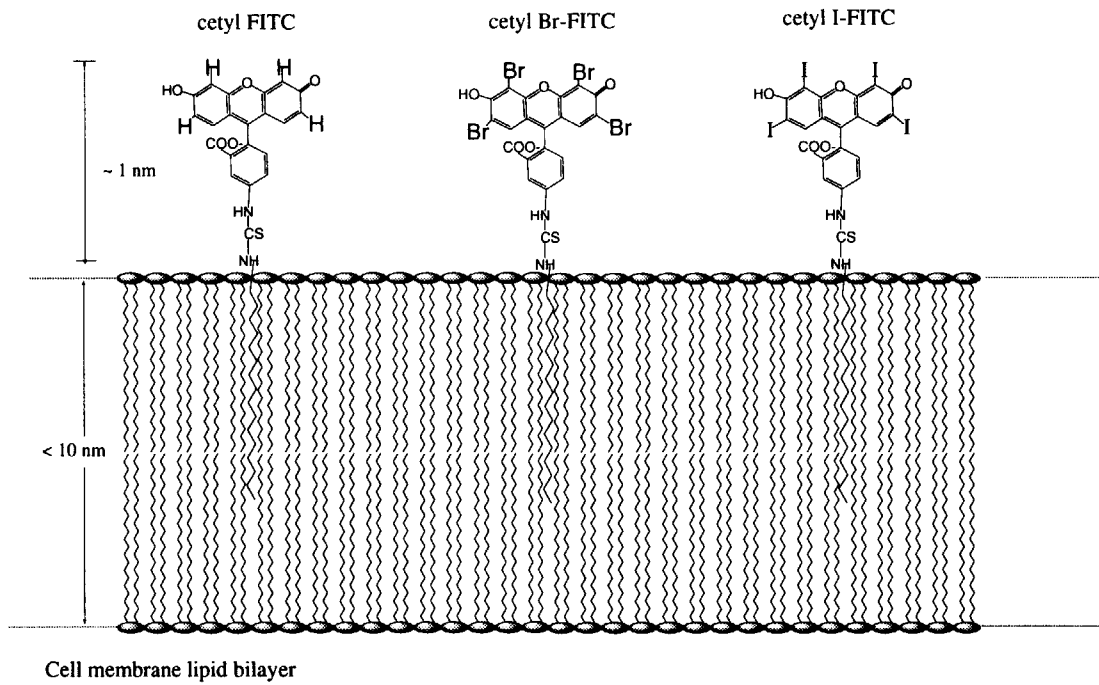
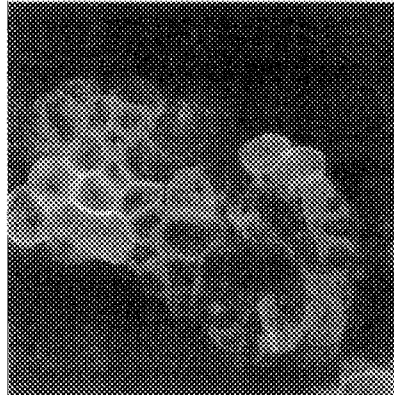


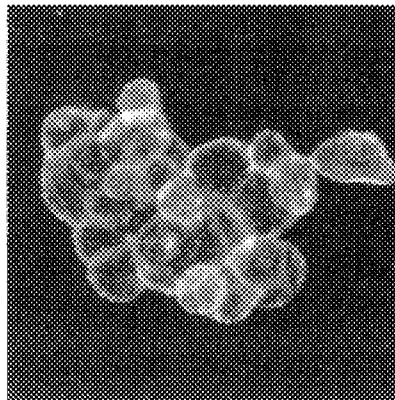
Fig. 5. Localization of cetylated fluorescent dyes into the cellular plasma membrane.

This is a blank page.

cetyl FITC



cetyl Br-FITC



cetyl I-FITC

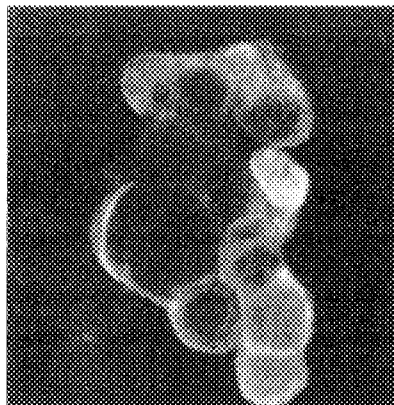


Fig. 6. Confocal images of LS-180 cells stained by cetyl fluorescents.

This is a blank page.

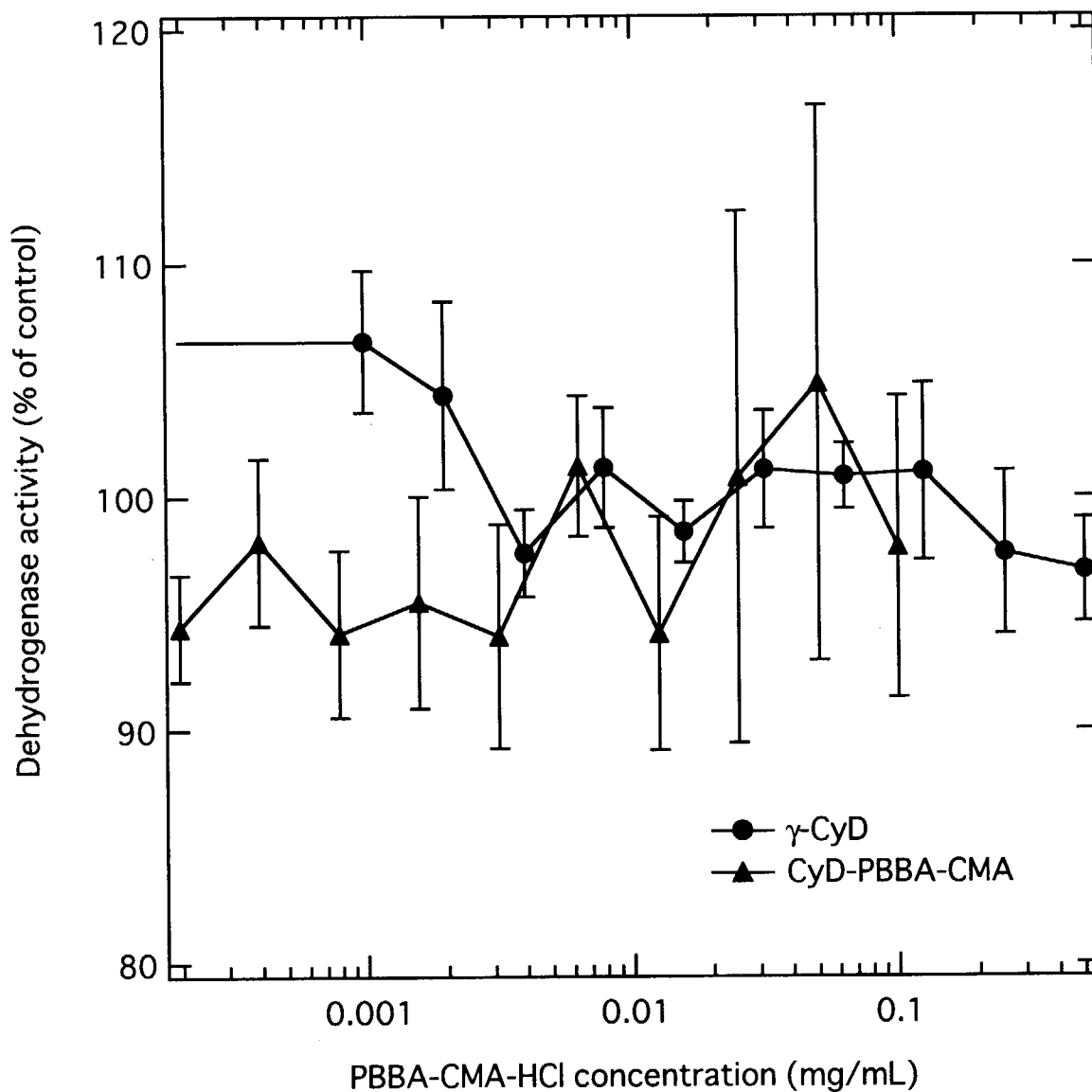


Fig. 7. Acute toxicity of γ -CyD and CyD-PBBA-CMA by WST-8 assay.

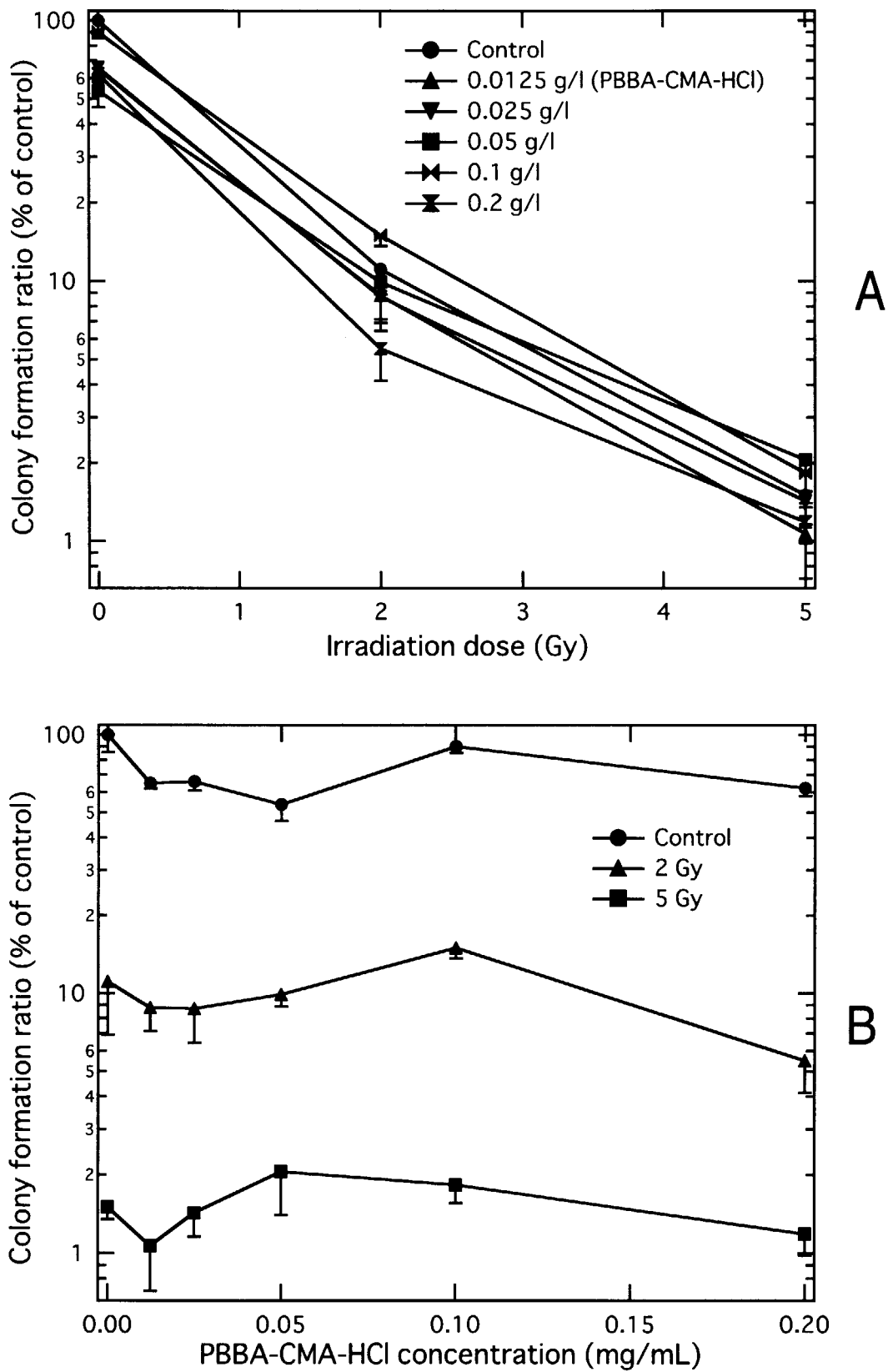
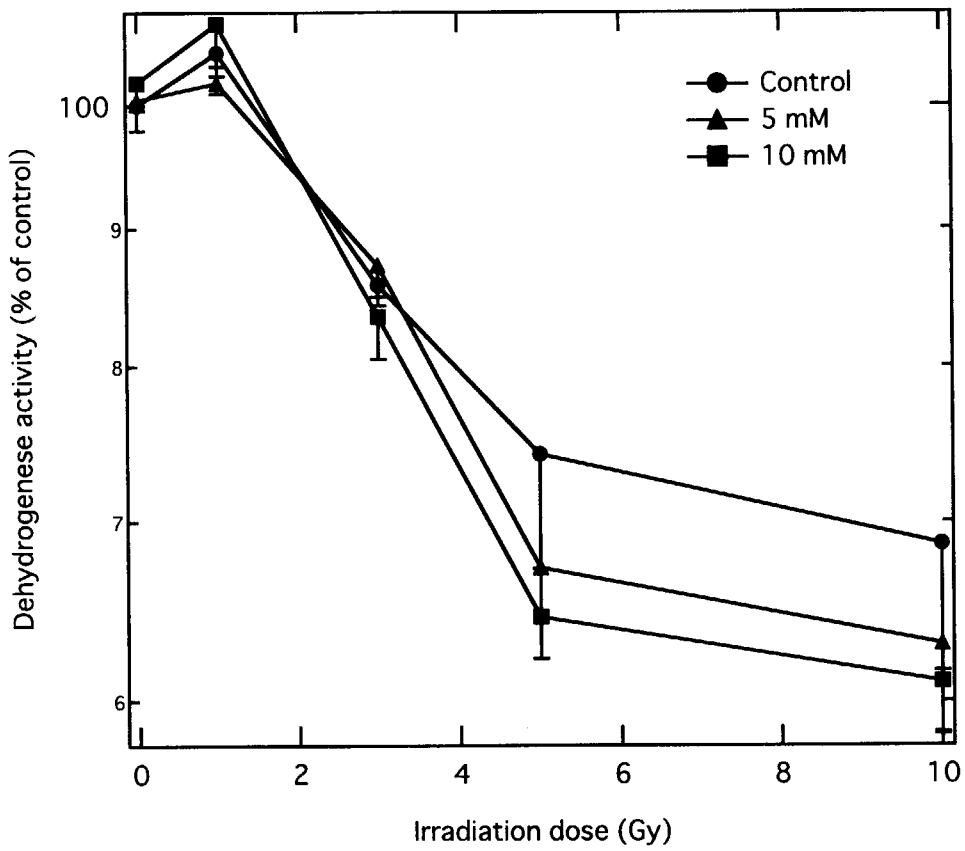
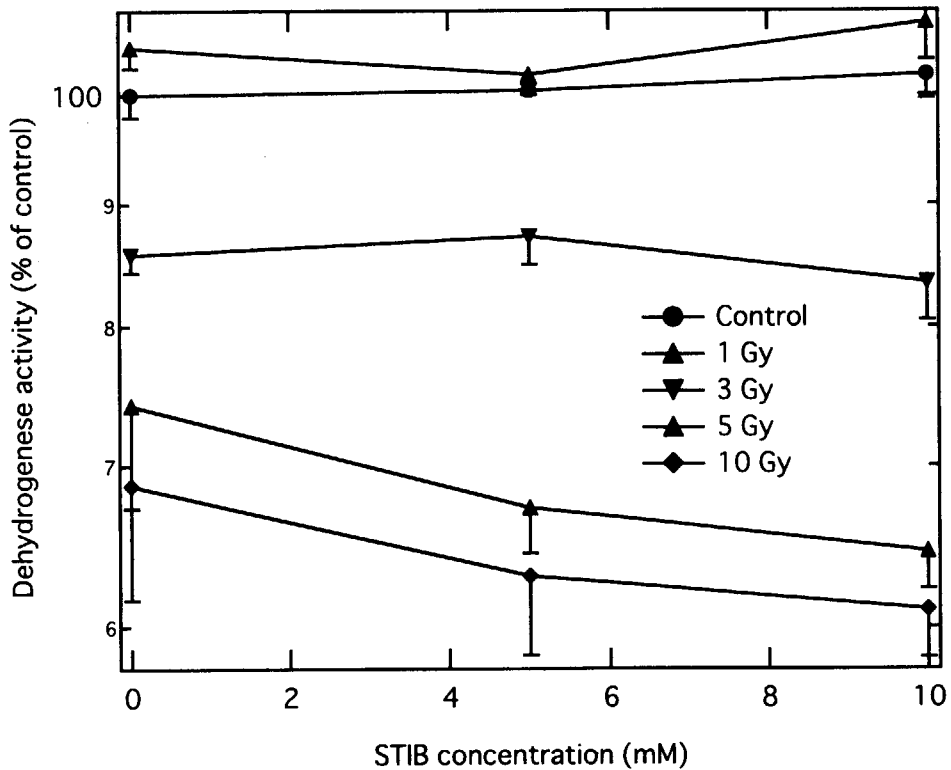


Fig. 8. Radiotoxicity of X-rays (100 kVp, W target) with or without CyD-PBBA-CMA to LS-180 cells tested by colony formation assay.



A



B

Fig. 9. Radiotoxicity of X-rays (100 kVp, W target) with or without STIB to LS-180 cells tested by WST-8 assay.

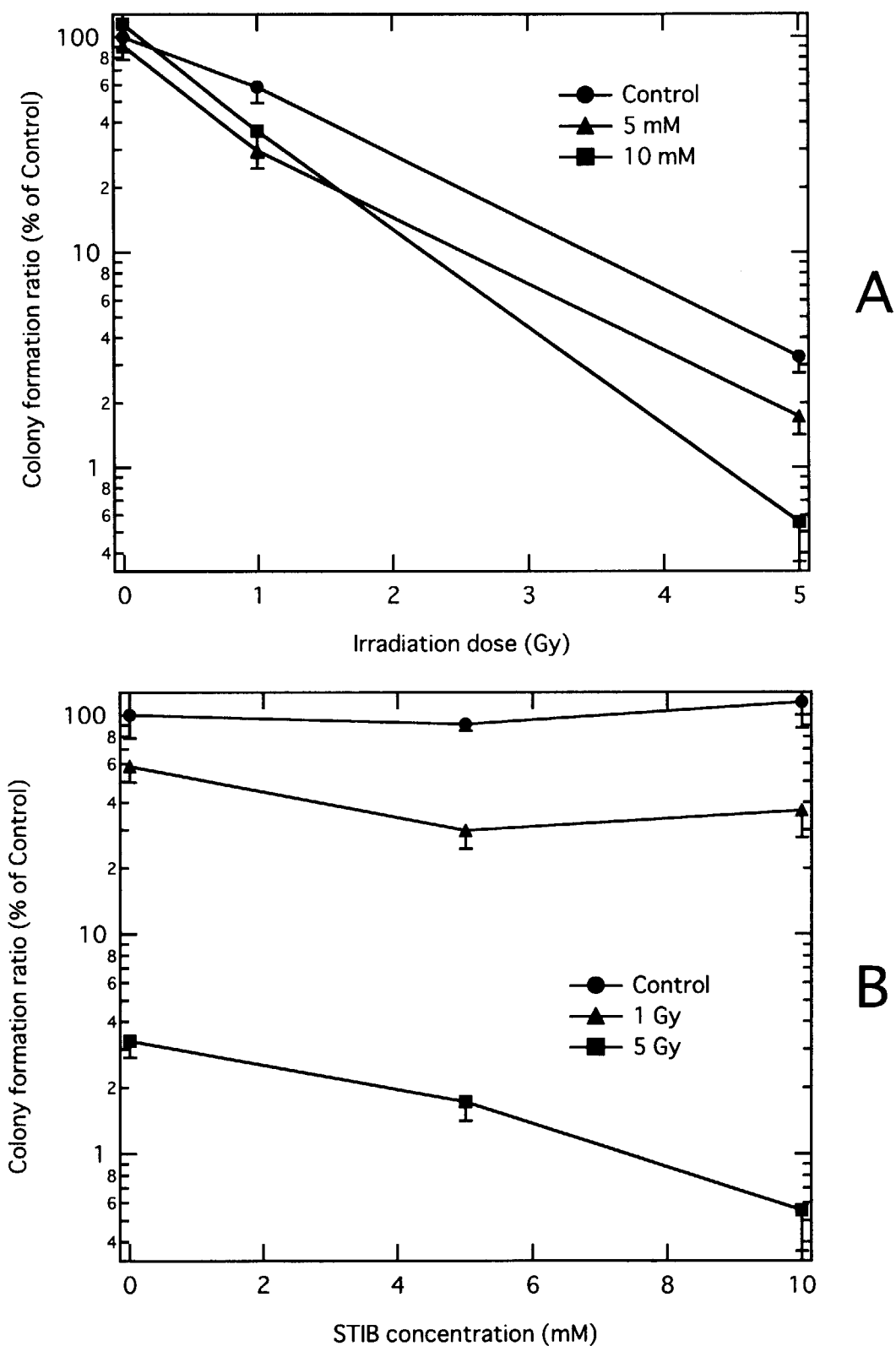


Fig. 10. Radiotoxicity of X-rays (100 kVp, W target) with or without STIB to LS-180 cells tested by colony formation assay.

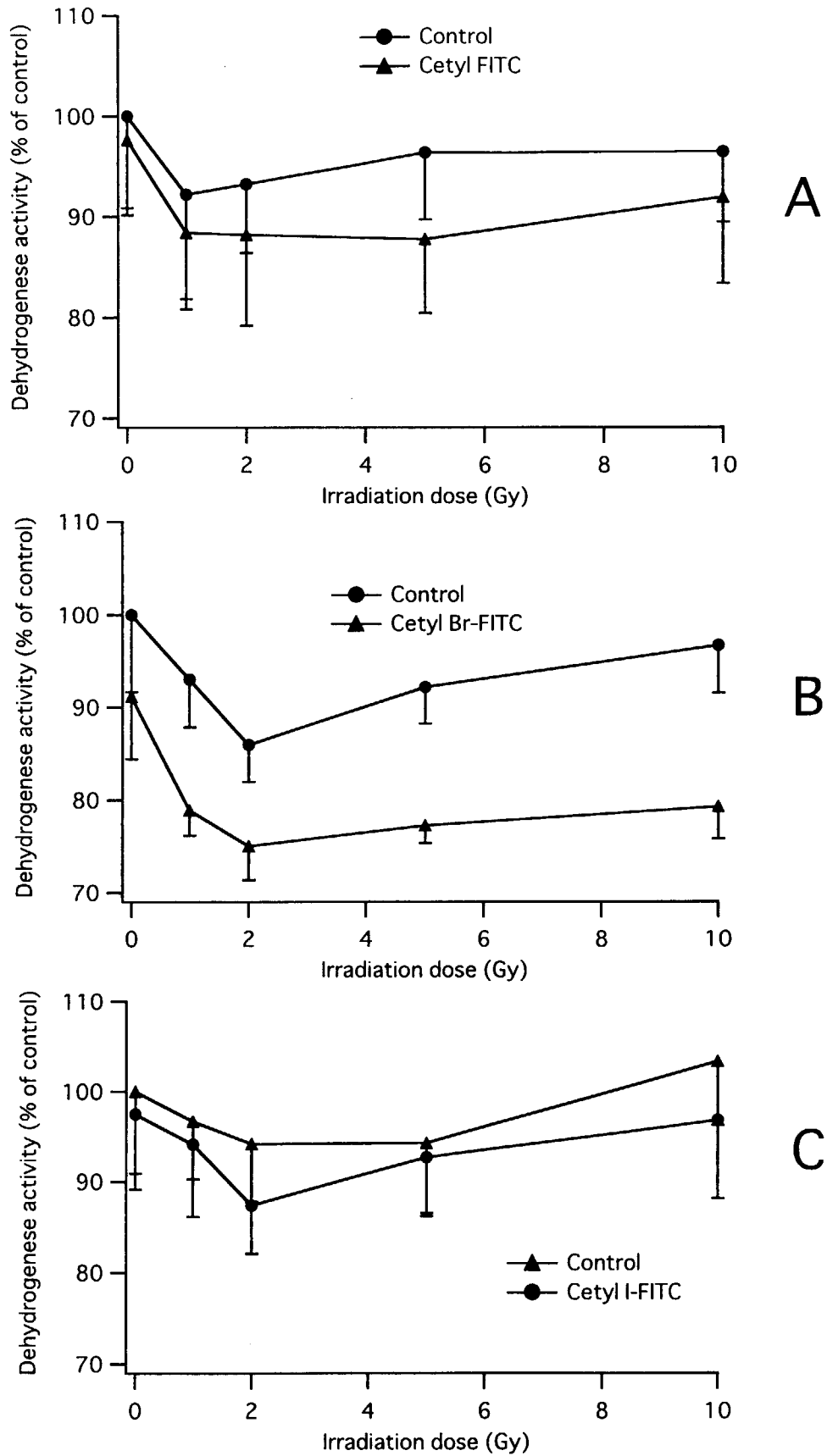


Fig. 11. Radiotoxicity of X-rays (100 kVp, W target) with or without cetyl fluorescents to LS-180 cells tested by WST-8 assay.

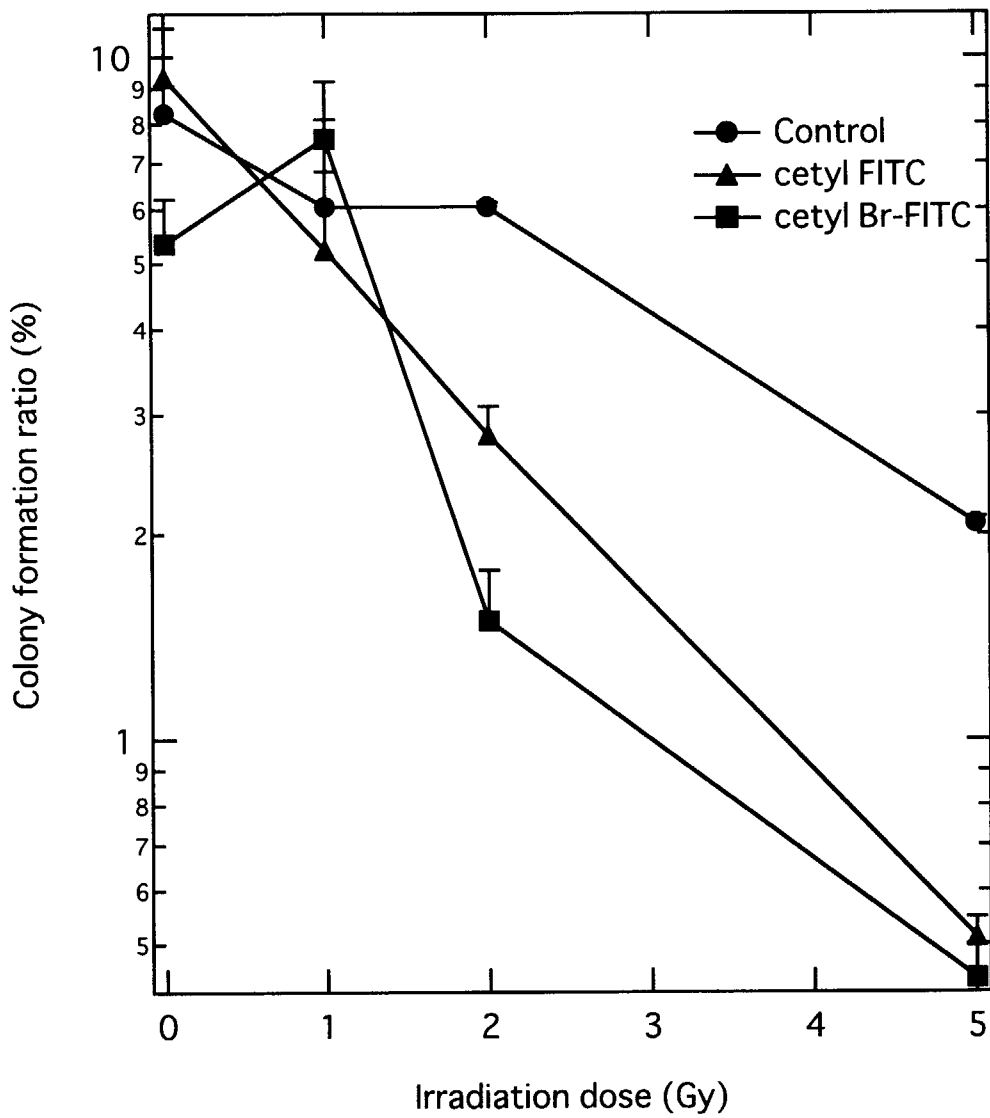
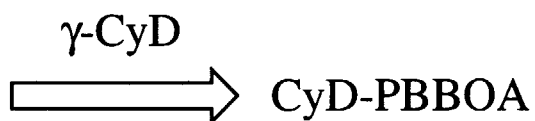
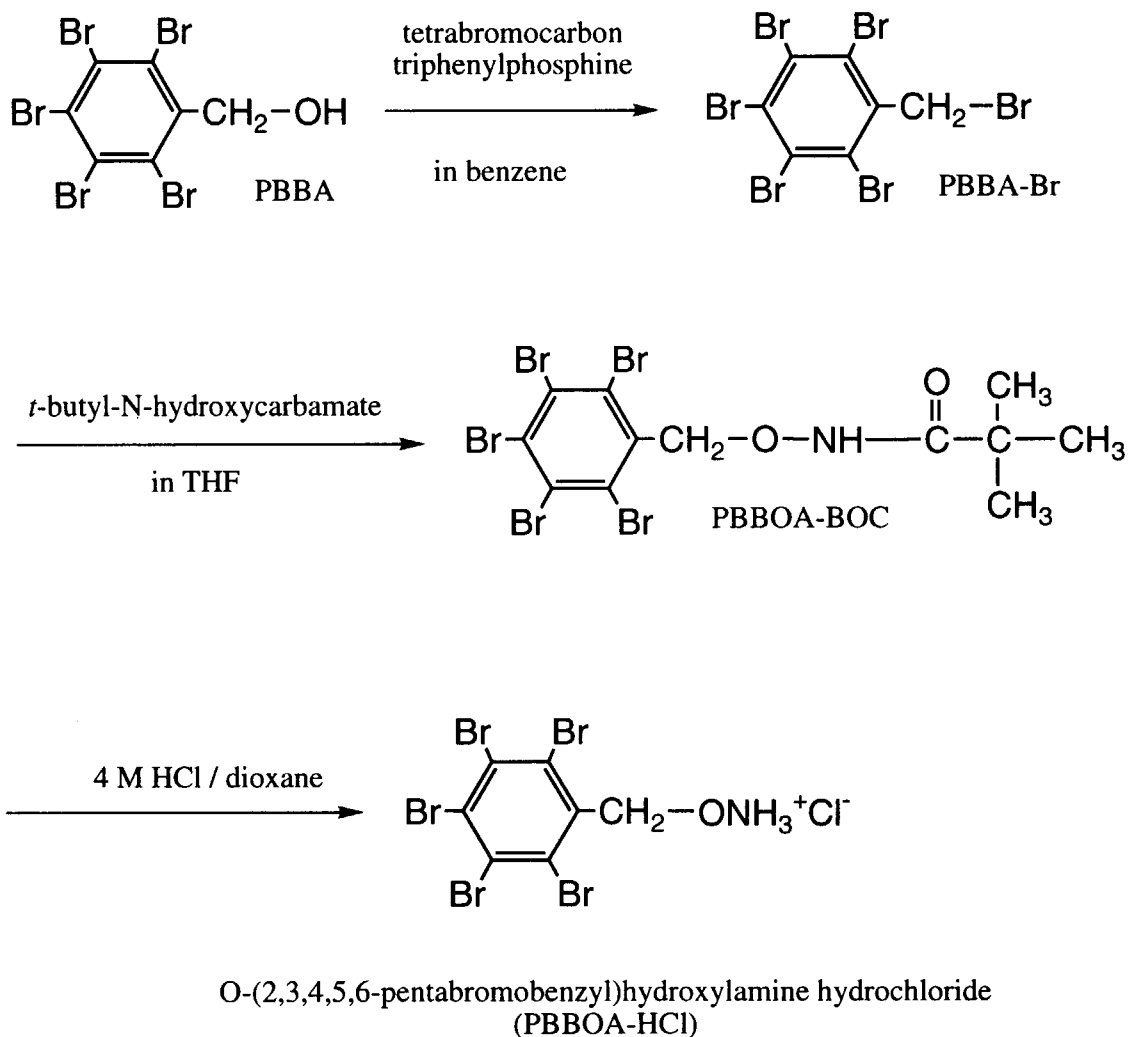
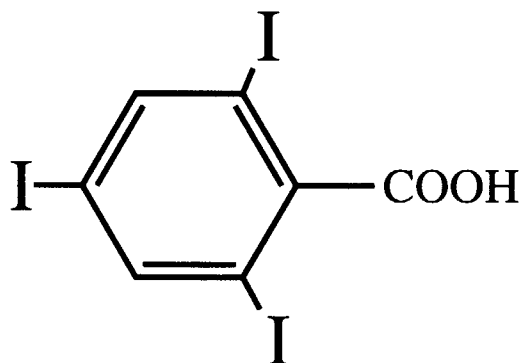


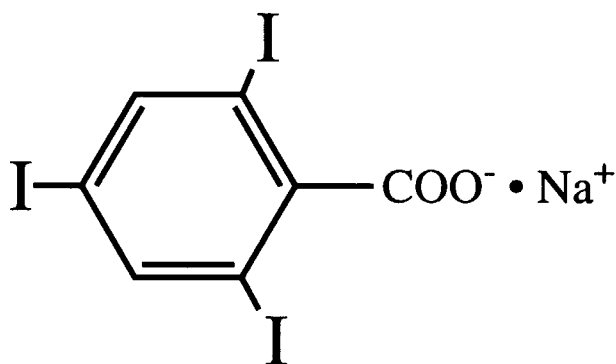
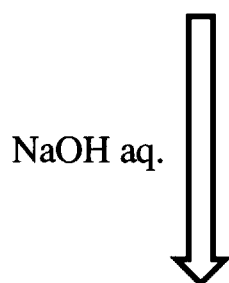
Fig. 12. Radiotoxicity of X-rays (100 kVp, W target) with or without cetyl fluorescents to LS-180 cells tested by colony formation assay.



Scheme 2. Synthetic processes of PBBOA and its host-guest complex with γ -CyD (CyD-PBBOA).



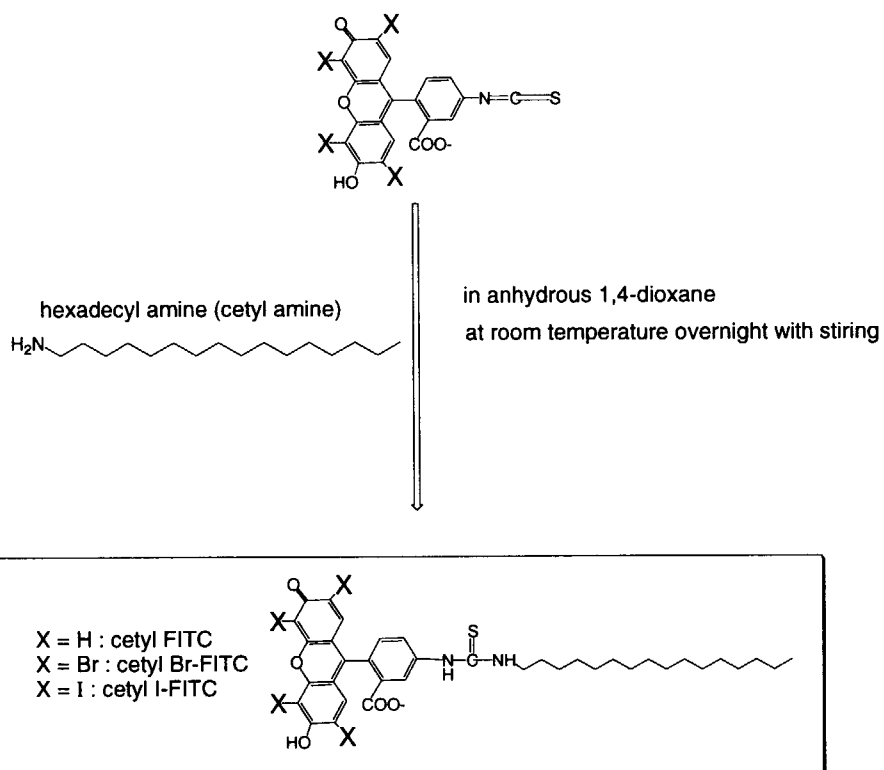
2,4,6-triodobenzoic acid



Sodium 2,4,6-triodobenzoate
(STIB)

Scheme 3. Synthetic process of sodium 2,4,6-triodobenzoate (STIB).

X = H : fluorescein isothiocyanate (FITC)
 X = Br : eosin isothiocyanate (Br-FITC)
 X = I : erythrosin isothiocyanate (I-FITC)



Scheme 4. Synthestic processes of cetylated fluorescents (cetyl FITC, cetyl Br-FITC andf cetyl I-FITC).

国際単位系 (SI) と換算表

表1 SI基本単位および補助単位

量	名称	記号
長さ	メートル	m
質量	キログラム	kg
時間	秒	s
電流	アンペア	A
熱力学温度	ケルビン	K
物質質量	モル	mol
光度	カンデラ	cd
平面角	ラジアン	rad
立体角	ステラジアン	sr

表3 固有の名称をもつSI組立単位

量	名称	記号	他のSI単位による表現
周波数	ヘルツ	Hz	s ⁻¹
力	ニュートン	N	m·kg/s ²
圧力, 応力	パスカル	Pa	N/m ²
エネルギー, 仕事, 熱量	ジュール	J	N·m
工率, 放射束	ワット	W	J/s
電気量, 電荷	クーロン	C	A·s
電位, 電圧, 起電力	ボルト	V	W/A
静電容量	ファラド	F	C/V
電気抵抗	オーム	Ω	V/A
コンダクタンス	ジーメンズ	S	A/V
磁束	ウェーバ	Wb	V·s
磁束密度	テスラ	T	Wb/m ²
インダクタンス	ヘンリー	H	Wb/A
セルシウス温度	セルシウス度	°C	
光照射度	ルーメン	lm	cd·sr
放射線量	グレイ	Gy	J/kg
線量当量	シーベルト	Sv	J/kg

表2 SIと併用される単位

名称	記号
分, 時, 日	min, h, d
度, 分, 秒	°, ', "
リットル	l, L
トン	t
電子ボルト	eV
原子質量単位	u

1 eV = 1.60218 × 10⁻¹⁹ J

1 u = 1.66054 × 10⁻²⁷ kg

表4 SIと共に暫定的に維持される単位

名称	記号
オングストローム	Å
バ	b
バール	bar
ガリ	Gal
キュリー	Ci
レントゲン	R
ラド	rad
レム	rem

1 Å = 0.1 nm = 10⁻¹⁰ m

1 b = 100 fm² = 10⁻²⁸ m²

1 bar = 0.1 MPa = 10⁵ Pa

1 Gal = 1 cm/s² = 10⁻² m/s²

1 Ci = 3.7 × 10¹⁰ Bq

1 R = 2.58 × 10⁻⁴ C/kg

1 rad = 1 cGy = 10⁻² Gy

1 rem = 1 cSv = 10⁻² Sv

表5 SI接頭語

倍数	接頭語	記号
10 ¹⁸	エクサ	E
10 ¹⁵	ペタ	P
10 ¹²	テラ	T
10 ⁹	ギガ	G
10 ⁶	メガ	M
10 ³	キロ	k
10 ²	ヘクト	h
10 ¹	デカ	da
10 ⁻¹	デシ	d
10 ⁻²	センチ	c
10 ⁻³	ミリ	m
10 ⁻⁶	マイクロ	μ
10 ⁻⁹	ナノ	n
10 ⁻¹²	ピコ	p
10 ⁻¹⁵	フェムト	f
10 ⁻¹⁸	アト	a

(注)

- 表1-5は「国際単位系」第5版, 国際度量衡局 1985年刊行による。ただし, 1 eV および 1 uの値は CODATA の1986年推奨値によった。
- 表4には海里, ノット, アール, ヘクトールも含まれているが日常の単位なのでここでは省略した。
- bar は, JISでは流体の圧力を表わす場合に限り表2のカテゴリーに分類されている。
- EC閣僚理事会指令では bar, barn および「血圧の単位」 mmHgを表2のカテゴリーに入れていない。

換算表

力	N (=10 ⁵ dyn)	kgf	lbf
	1	0.101972	0.224809
	9.80665	1	2.20462
	4.44822	0.453592	1

粘度 1 Pa·s (N·s/m²) = 10 P (ポアズ) (g/(cm·s))

動粘度 1 m²/s = 10⁴ St (ストークス) (cm²/s)

圧	MPa (=10 bar)	kgf/cm ²	atm	mmHg (Torr)	lbf/in ² (psi)
力	1	10.1972	9.86923	7.50062 × 10 ³	145.038
	0.0980665	1	0.967841	735.559	14.2233
	0.101325	1.03323	1	760	14.6959
	1.33322 × 10 ⁻⁴	1.35951 × 10 ⁻³	1.31579 × 10 ⁻³	1	1.93368 × 10 ⁻²
	6.89476 × 10 ⁻³	7.03070 × 10 ⁻²	6.80460 × 10 ⁻²	51.7149	1

エネルギー・仕事・熱量	J (=10 ⁷ erg)	kgf·m	kW·h	cal (計量法)	Btu	ft·lbf	eV
	1	0.101972	2.77778 × 10 ⁻⁷	0.238889	9.47813 × 10 ⁻⁴	0.737562	6.24150 × 10 ¹⁸
	9.80665	1	2.72407 × 10 ⁻⁶	2.34270	9.29487 × 10 ⁻³	7.23301	6.12082 × 10 ¹⁹
	3.6 × 10 ⁶	3.67098 × 10 ⁵	1	8.59999 × 10 ⁵	3412.13	2.65522 × 10 ⁶	2.24694 × 10 ²⁵
	4.18605	0.426858	1.16279 × 10 ⁻⁶	1	3.96759 × 10 ⁻³	3.08747	2.61272 × 10 ¹⁹
	1055.06	107.586	2.93072 × 10 ⁻⁴	252.042	1	778.172	6.58515 × 10 ²¹
	1.35582	0.138255	3.76616 × 10 ⁻⁷	0.323890	1.28506 × 10 ⁻³	1	8.46233 × 10 ¹⁸
	1.60218 × 10 ⁻¹⁹	1.63377 × 10 ⁻²⁰	4.45050 × 10 ⁻²⁶	3.82743 × 10 ⁻²⁰	1.51857 × 10 ⁻²²	1.18171 × 10 ⁻¹⁹	1

1 cal = 4.18605 J (計量法)

= 4.184 J (熱化学)

= 4.1855 J (15 °C)

= 4.1868 J (国際蒸気表)

仕事率 1 PS (仏馬力)

= 75 kgf·m/s

= 735.499 W

放射能	Bq	Ci
	1	2.70270 × 10 ⁻¹¹
	3.7 × 10 ¹⁰	1

吸収線量	Gy	rad
	1	100
	0.01	1

照射線量	C/kg	R
	1	3876
	2.58 × 10 ⁻⁴	1

線量当量	Sv	rem
	1	100
	0.01	1

癌治療を目的とした新規放射線増感剤の開発

R100

古紙配合率100%
白色度70%再生紙を使用しています