

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫 成果報告

## 強化放射線治療效果之抗癌藥物篩選及其作用機轉研究 研究成果報告(精簡版)

計畫類別：個別型  
計畫編號：NSC 95-2323-B-002-014-  
執行期間：95年08月01日至96年07月31日  
執行單位：國立臺灣大學醫學院(附設醫院)腫瘤醫學部

計畫主持人：成佳憲

計畫參與人員：碩士級-專任助理：徐悅淳  
                  博士後研究：周佳宏

處理方式：本計畫可公開查詢

中華民國 96年10月16日

行政院國家科學委員會補助專題研究計畫  成果報告  
 期中進度報告

## 強化放射線治療效果之抗癌藥物篩選及其作用機轉研究

計畫類別： 個別型計畫  整合型計畫

計畫編號：NSC95-2323-B-002-014

執行期間：95 年 8 月 1 日至 96 年 7 月 31 日

計畫主持人：成佳憲

共同主持人：郭明良，陳祈安

計畫參與人員：徐悅淳，周佳宏

成果報告類型(依經費核定清單規定繳交)： 精簡報告  完整報告

本成果報告包括以下應繳交之附件：

赴國外出差或研習心得報告一份

赴大陸地區出差或研習心得報告一份

出席國際學術會議心得報告及發表之論文各一份

國際合作研究計畫國外研究報告書一份

處理方式：除產學合作研究計畫、提升產業技術及人才培育研究計畫、列管計畫及下列情形者外，得立即公開查詢

涉及專利或其他智慧財產權， 一年  二年後可公開查詢

執行單位：國立台灣大學醫學院臨床醫學研究所

中 華 民 國 96 年 10 月 16 日

# 行政院國家科學委員會專題研究計畫成果報告

計畫編號：NSC 95-2323-B-002-014

執行期限：95 年 8 月 1 日至 96 年 7 月 31 日

主持人：成佳憲 國立台灣大學醫學院臨床醫學研究所

共同主持人：郭明良，陳祈安

計畫參與人員：徐悅淳，周佳宏 國立臺灣大學醫學院(附設醫院)腫瘤醫學部

## 一、中文摘要

本年度之計畫重點為運用已建立之細胞模式篩選能增強放射線效果的相關藥物及分子化合物，並進一步以動物試驗驗證其臨床運用之可行性。細胞模式為運用 ELISA plate based colony formation assay 及數位影像分析結合酵素活性測試檢視 colony 大小與數目，動物試驗為運用放射線治療小鼠腿部腫瘤模式。本年度之細胞篩選共完成 324 種化合物。在前一年度中，我們藉由細胞篩選模式篩選出 12 種萃取物與 11 種化合物，進行動物試驗，很遺憾上述樣品皆無法通過三次重複試驗之驗證。萃取物部分受限於無法以腹腔注射給予，只能以管餵方式給藥，且實驗結果之重現性有很大差異，因此無法進一步發展。化合物的部分最大的困難為藥物溶解度的問題，儘管我們以超音波震撼方式將藥品懸浮於 CMC 中來解決此問題，部分以管餵方式給藥的組別也出現結果之重現性有很大差異的問題。因此就篩選成果而言，很遺憾並無篩選到能增強放射線效果的相關藥物。

**關鍵詞：**放射線，藥物篩選系統，效果強化，副作用

## Abstract

The aim of this project is to screen and evaluate the therapeutic effect of the supplemental drugs to radiation by the established cell biology methods and animal studies. In the cell biology approach, we used

the ELISA plate based colony formation assay combined with digital imaging analysis system to measure the size of colony and to quantify the number of colonies. In the animal study, we used radiotherapy combined with the drugs to test the therapeutic effect on the tumor implanted in the leg of mouse. We completed the survey of 324 pure compounds by the cell screening model. In previous study, we selected 11 crude extracts and 12 pure compounds to proceed with the animal test for this year, but none of them can pass the test in the three repeated assays. The main problem in the crude extracts is its difficulty in administering the extracts by intra-peritoneal injection. We tested the crude extracts by oral administration; however, the results were hard to interpret. The main problem in the pure compounds is the difficulty in dissolving the compound by water. Besides, we processed the pure compounds by ultrasonic vibration and tested them by oral administration. However, the results were unsatisfactory. Up to date, we could still not find out any potential one from the supplemental drugs with the therapeutic effect to radiation.

**Keywords:** Radiation, Drug screening system, Enhancing effect, Side effect.

## 二、計畫緣由與目的

癌症治療一直是國內外研究人員與社會大眾關注的問題，也是生技製藥國家型科技計畫的探索重點。目前在臨床上有超過 60% 的癌症患者須接受放射線治療<sup>1</sup>，儘管放射線治療的效果良好，但仍有傷害正常組織的副作用，例如會導致局部組織發

炎、腸道細胞受損而影響食慾及吸收，或肛門尿道的表皮發炎受損造成疼痛等。近來更有研究顯示未被足夠放射線能量命中的癌細胞組織，其轉移、腫瘤血管新生的能力反而可能增強<sup>2,8</sup>。隨著立體定位技術與直線加速器的不斷進展，放射線治療在癌症治療的運用上將日趨重要，近年來應用原理與放射線治療相似但對特定腫瘤治療效果更佳的質子治療也逐漸成熟<sup>3</sup>。因此如何更增強放射線治療效果或減少治療產生之副作用，成為臨床與基礎研究上值得探討的問題<sup>4</sup>。本研究的最大目標為建立實驗室篩選模式，目標為篩選出增強放射線效果，或減少放射線治療產生之副作用的相關藥物及分子化合物。

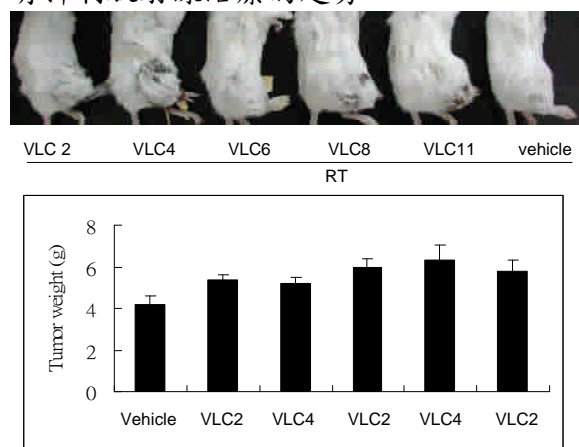
人們使用放射線治療已經超過百年的歷史，一直到細胞分子生物學上的發展，大家才逐漸瞭解放射線治療於細胞內的作用機轉，目前已知的機轉包括造成細胞內氧化壓力<sup>9</sup>(oxidative stress)、損傷 DNA<sup>10</sup>、抑制細胞週期<sup>11</sup>等，在細胞訊息傳遞的研究上也發現，訊息傳遞調節分子如 PI3K、MAPK<sup>5</sup>、JANK 及轉譯分子如 AP-1、NFkB 等會在放射線治療過程中被活化，而進一步誘發特定基因及其蛋白質如 p53、p21、IL-6、Cox-2、TNF-alpha 等之表現<sup>6,7</sup>，這些分子層次的變化不但解釋了放射線治療的作用機轉，也提供了解決放射線副作用產生及增強放射線治療效果的方向。

探討能強化放射線效果的研究逐漸成為國際上癌症治療會議的研討主題之一，顯然強化放射線效果之議題已位居這個方向國際相關研究的主流。因此我們期望運用實驗室方法建立之強化放射線治療藥效評估篩選系統，透過國家型科技計畫之整合，能篩選出與放射線治療併用具有潛力之抗癌分子化合物。

### 三、結果與討論

本年度研究計畫之執行重點，為持續篩選

能增強放射線效果，或減少放射線治療產生之副作用的相關藥物，包含能增強放射線效果 (radiosensitizer) 或減少放射線治療產生之副作用藥物 (radioprotector)。本年度之細胞篩選共完成 324 種化合物。在前一年度中，我們藉由細胞篩選模式篩選出 12 種萃取物與 11 種化合物，一併於本年度中進行動物試驗。我們的試驗條件為我們用的條件為萃取物 200mg/kg/day 純物質 100 mg/kg，共餵食 30 天，與 vehicle (0.5% CMC) 組相比較。很遺憾我們進行測試之樣品幾乎都無促進放射線治療的作用，有些反而有抑制放射線治療的趨勢。



上圖以某位 PI 提供之動物試驗結果為例，BALBC 小鼠腿部種入小鼠肝癌細胞株 BNL，腫瘤大小約 8mm 時開始管餵萃取物 200mg/kg/day，並給予放射線治療 (5Gy/天共 5 天) 並持續餵藥共餵食 30 天，最後與 vehicle (0.5% CMC) 組相比較。實驗結果顯示進行測試之樣品都無促進放射線治療的作用，圖中之樣品反而有抑制放射線治療的趨勢。

事實上能進入動物試驗之樣品(萃取物或純物質)皆是經由三次細胞學測試，顯示具有強化放射線治療效過之樣品，然而進入動物試驗後卻無法獲得如在細胞試驗看到的良好效果，我們認為原因可能與藥物的溶解性質有很大關連，在細胞試驗中無法水溶的會以 DMSO 進行溶解在進行測試，然而在動物試驗中受限於 DMSO 可能具有毒性無法長時期餵食動物，在無法有良好溶解的情況下對於實驗過程中藥量的精準度可能產生影響，此外管餵對於藥量之吸收也可能造成影響。

在結果重現性的部份是我們最感到困

擾的問題，除了上述藥物溶解性質問題，每次向 PI 拿到之樣品在品質上並無法獲得一致的保證，在此層次的問題可能有賴生技製藥國家型科技計畫辦公室針對樣品品管問題與提供樣品之單位進行溝通與改善。

越來越多的科學證明腫瘤治療應以放射線治療，開刀或化療為主軸。能強化放射線效果的研究更是國際上癌症治療的熱門主題，應用原理與放射線治療相似但對特定腫瘤治療效果更佳的質子治療也逐漸成熟，顯然強化放射線效果之議題已位居這個方向國際相關研究的主流。

#### 四、計畫成果自評

經過三年來實際進行測試的經驗累積，我們每月均能如期完成計畫辦公室交付之樣品測試。本年度之細胞篩選共完成 324 種化合物。12 種萃取物與 11 種化合物，很遺憾皆無法通過三次重複試驗之驗證。然而在藥物的篩選過程與生技製藥國家型科技計畫辦公室鄧哲明教授及符文美教授的指導下，此計畫所建立的細胞及動物的篩選平臺以具有良好之效率及應用價值，在本年度篩選過程中我們也以此技術平臺探討相關放射線治療生物效應問題，結果已經發表於 *Oncogene* (2006) 及 *Clinical Cancer Research* (2007)。

#### 五、參考文獻

1. Marples B, Greco O, Joiner MC, Scott SD. Radiogenetic therapy: strategies to overcome tumor resistance. *Curr Pharm Des* 2003;9:2105-2112.
2. Garcia-Barros M, Kolesnick R. Tumor response to radiotherapy regulated by endothelial cell apoptosis. *Science* 2003;300:1155-1159.
3. Palm A, Johansson KA. A review of the impact of photon and proton external beam radiotherapy treatment modalities on the dose distribution in field and out-of-field; implications for the long-term morbidity of cancer survivors.

- Acta Oncol. 2007; 46:462-73.
4. Choy H, Milas L. Enhancing radiotherapy with cyclooxygenase-2 enzyme inhibitors: a rational advance? *J Natl Cancer Inst* 2003; 95:1440-1452.
5. Dent P, Yacoub A, Fisher PB, Hagan MP, Grant S. MAPK pathways in radiation responses. *Oncogene* 2003; 22:5885-5896.
6. Mikkelsen RB, Wardman P. Biological chemistry of reactive oxygen and nitrogen and radiation-induced signal transduction mechanisms. *Oncogene* 2003;22:5734-5754.
7. Kulka U, Duhmke E, Jori G.. Photofrin as a radiosensitizer in an in vitro cell survival assay. *Biochem Biophys Res Commun* 2003;311:98-103.
8. Camphausen K, Moses MA, Beecken WD, Khan MK, Folkman J, O'Reilly MS. Radiation therapy to a primary tumor accelerates metastatic growth in mice. *Cancer Res* 2001;61:2207-2211.
9. Azzam EI, de Toledo SM, Little JB. Oxidative metabolism, gap junctions and the ionizing radiation-induced bystander effect. *Oncogene* 2003;22:7050-7057.
10. Angele S, Romestaing P, Moullan N, Vuillaume M, Chapot B, Friesen M, Jongmans W, Cox DG, Pisani P, Gerard JP, Hall J. ATM haplotypes and cellular response to dna damage: association with breast cancer risk and clinical radiosensitivity. *Cancer Res* 2003;63:8717-8725.
11. Hopewell JW, Nyman J, Turesson I. Time factor for acute tissue reactions following fractionated irradiation: a balance between repopulation and enhanced radiosensitivity. *Int J Radiat Biol* 2003;79:513-524.