

## 昇圧化学療法における制癌剤の薬動力学に関する研究

岡本 公彰・高尾亜由子・藤田 浩

鶴見大学歯学部細菌学教室

(昭和 62 年 6 月 27 日受付)

Angiotensin II (AT-II) 昇圧化学療法 (IHC) における制癌剤の薬動学的解析を試みた。Sarcoma 180 担癌マウスを用い、AT-II 1~2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  5分間投与後、5-Fluorouracil (5-FU) 40 mg/kg, または Adriamycin (DXR) 10 mg/kg を静注し、さらに AT-II 昇圧を 10 分間追加した。制癌剤投与後経時的に血中、腫瘍中、正常組織中の薬剤濃度を 5-FU は bioassay 法, DXR は HPLC 法で測定し、薬動学的解析を行なった。その結果以下のことが判明した。

1. 対照群では腫瘍重量と腫瘍組織内制癌剤濃度は負の相関関係がみられ、大きい腫瘍程制癌剤が到達しにくい。
2. IHC により腫瘍組織に選択的に制癌剤濃度が上昇した。
3. IHC により腫瘍深部にまで制癌剤が到達する。
4. IHC 群は対照群に比べ腫瘍重量が大きい程、AUC (濃度曲線下面積) の増加の程度も大きい。
5. IHC 群において腫瘍重量が大きい程薬剤の efflux の割合が少ない。
6. 制癌剤の種類により IHC の薬物動態が多少異なる。

以上のことより IHC は独特の作用機序をもつ drug delivery system と考えられ、化学療法の効果改善に役立つものと思われる。

化学療法の効果改善として、制癌剤の腫瘍組織への到達性を改善することは重要な問題と思われる。1977 年鈴木ら<sup>1)</sup>は、腫瘍血管の特殊性に着目し、Angiotensin II (AT-II) を投与し血圧を正常の 1.5 倍上昇させると腫瘍組織の血流量が選択的に 5~6 倍増加することを見出した。すなわち、腫瘍血管には昇圧剤に反応する筋組織の構築が極めて不完全であるため<sup>2)</sup>、昇圧により血管は受動的に拡張され、腫瘍組織のみ血流量が増加し、制癌剤と腫瘍細胞との接触の機会を高める方法である。その後涌井ら<sup>3)</sup>により昇圧化学療法 (IHC) として臨床に応用され、既に奏効率の改善、臨床効果の早期判定が可能であることが多数報告されている<sup>4,5)</sup>。

我々は Sarcoma 180 担癌マウスを用い 2 種類の制癌剤、5-Fluorouracil (5-FU) および Adriamycin (DXR) 投与後の各種組織内制癌剤濃度を測定し、IHC における薬物動態を詳細に調べ若干の知見を得たので報告する。

### I. 材料と方法

#### A. 動物

ICR 雄性マウス (7週齢) は日本クレア (株) より購入した。Sarcoma 180 腫瘍は  $10^6$  個の細胞を背部皮下に

移植した後 14 日目のものを用いた。

#### B. 動脈圧の測定および昇圧化学療法の施行

平均動脈圧の測定は、Sarcoma 180 担癌マウスに 30 mg/kg のネブタール (s.c.) および補助的にエーテルの吸入による麻酔下で、左頸動脈より水銀マノメーターに連結した 30 G の注射針を挿入し、観血的に行なった。昇圧化学療法の実行に当っては、Sarcoma 180 担癌マウスに血圧測定時と同様の麻酔下で、インフュージョンポンプ (Harvard 社製) を用い毎分 4~8  $\mu\text{l}$  の速度で 5分間 AT-II [チバガイギー (株)] を尾静脈より投与し (1~2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$ )、血圧を正常の 1.5 倍上昇させた後、40 mg/kg の 5-FU もしくは 10 mg/kg の DXR を尾静脈より投与し、さらに 10 分間 AT-II を持続投与し血圧を維持した。

#### C. 薬剤濃度の測定

制癌剤投与後、経時的に心臓穿孔により採血し、遠心分離をし plasma とし、各種正常および腫瘍組織を別出した。5-FU の定量は、血液は直接に、組織は生食で homogenize した後、酢酸エチルにて抽出し、*Staphylococcus aureus* 209 P を用いた bioassay 法により測定した<sup>6)</sup>。DXR は 0.1 M ammonium buffer (pH 9.0) 中で

血液および組織を homogenize した後、クロロホルム・メタノールにて抽出し HPLC にて分離定量した。column は ODS, 移動相として 35 mM formate buffer (pH 3.0): CH<sub>3</sub>CN=65:35 を用い、検出は蛍光検出器 (ex 470 nm, em 550 nm) を用いた。DXR 代謝物である DXR-OH, aglycone はマウスにおいて微量であるので<sup>8)</sup>、DXR 濃度だけを比較した。

#### D. 薬力学的パラメーターの算定

5-FU 投与後、10, 20, 30, 60 分、1, 2, 4 時間の血中 5-FU 濃度および腫瘍組織中の 5-FU 濃度、および DXR 投与後 10, 30 分、1, 5, 24 時間の血中 DXR 濃度は 2 exponential curve に当てはめ 0~∞ 時間または 0~4 時間の AUC を積分により求めた。腫瘍組織中の DXR の AUC は DXR 投与後 10 分、30 分、1 時間および 5 時間の濃度を直線で結び、直線下の面積を求めた。

## II. 結果

### A. AT-II 投与による血圧の変化

IHC の施行において、平常の 1.5 倍の血圧の上昇が必要とされている。Fig. 1 は 1~2 μg/kg/min の AT-II を 5 分間マウスに持続投与した際の血圧の変化を示している。その結果、AT-II 1~2 μg/kg/min の投与量範囲内では投与量にかかわらず、投与開始 3 分後には全例目標血圧である 150±5% に到達し安定して持続した。5 分間の AT-II 投与終了後、血圧は速やかに下降し、実験開始 10 分後には平常血圧 (70~90 mmHg) の 1.0~1.2 倍まで回復した。

### B. IHC における 5-FU の体内動態

#### 1) 血中 5-FU 濃度

5-FU は 2 相性をなし、血中より速やかに消失した (Fig. 2)。对照群の  $t_{1/2\beta}$  は 13 分、AUC は 529 μg·min/ml であるのに対し、昇圧群での  $t_{1/2\beta}$  は 23.7 分、AUC は 650 μg·min/ml とやや増加した。

#### 2) 各種正常および腫瘍組織内 5-FU の AUC

各種正常および腫瘍組織における 5-FU 濃度を測定し、その AUC を比較した (Table 1)。对照群の各組織の AUC は腫瘍、腎、筋肉、脾、胃、肺、心、肝、脳の前が大きかった。AT-II 昇圧下では腫瘍組織の AUC は 1.5 倍に増加したが、正常組織の AUC は非昇圧群と比較し何ら顕著な増加は認められなかった。

#### 3) 腫瘍重量と腫瘍組織内 5-FU 濃度の関係

非昇圧群では、5-FU 投与後 10 分から 4 時間までの測定期間中、腫瘍重量が大きくなるに従い、腫瘍組織内制癌剤濃度は低下し、両者の間には -0.946~-0.386 と強い相関関係がみられた。このことより非昇圧群では大きい腫瘍程 5-FU は組織内に到達しにくく、特に腫瘍

Fig. 1 Arterial blood pressure in Sarcoma 180-bearing mice during and after infusion of AT-II for 5 min at a dose of 1~2 μg/kg/min

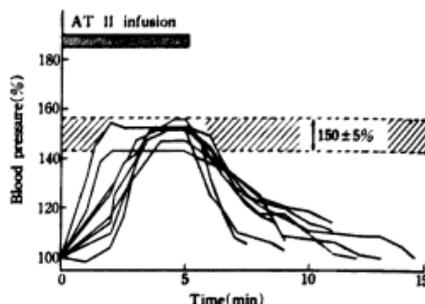
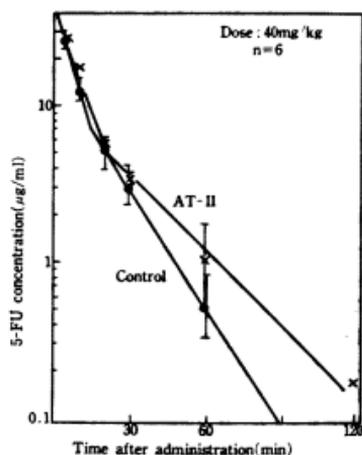


Fig. 2 Plasma levels of 5-FU and its pharmacokinetic parameters under IHC



	$t_{1/2\alpha}$ (min)	$t_{1/2\beta}$ (min)	AUC (μg·min/ml)	Cl (l/kg/min)
Control	2.50	13.0	529	0.076
AT-II	4.55	23.7	650	0.061

中心部には到達しにくいことが示唆された (Fig. 3)。

一方、昇圧群では 5-FU 投与後 10 分後には、腫瘍重量にかかわらず一様に高濃度の 5-FU が測定され、このことは腫瘍全体に 5-FU が均等に分布し、腫瘍深部にも 5-FU が到達することを示唆しているものと思われる。また時間の経過とともに、小さな腫瘍では大きな腫瘍に比較し、速やかに对照群の値まで低下し、腫瘍表面からの efflux が示唆された。

**Table 1 Comparison of AUC (0 to  $\infty$ ) for 5-FU in various normal and tumor tissues under IHC or normotension. Dose of 5-FU was 40 mg/kg.**

	AUC ( $\mu\text{g}\cdot\text{min}/\text{g}$ )		T/C (%)
	Control	IHC	
Brain	281.2	259.1	0.92
Heart	484.6	501.0	1.03
Lung	615.0	637.7	1.04
Liver	301.0	316.4	1.05
Spleen	823.4	767.8	0.93
Kidney	1,788	1,393	0.78
Stomach	751.3	716.0	0.95
Muscle	1,088	1,132	1.04
Tumor	1,810	2,832	1.56

**Fig. 3 Relationship between tumor weight and concentration of 5-FU in Sarcoma 180 tumor tissue. 5-FU : 40 mg/kg, iv.**

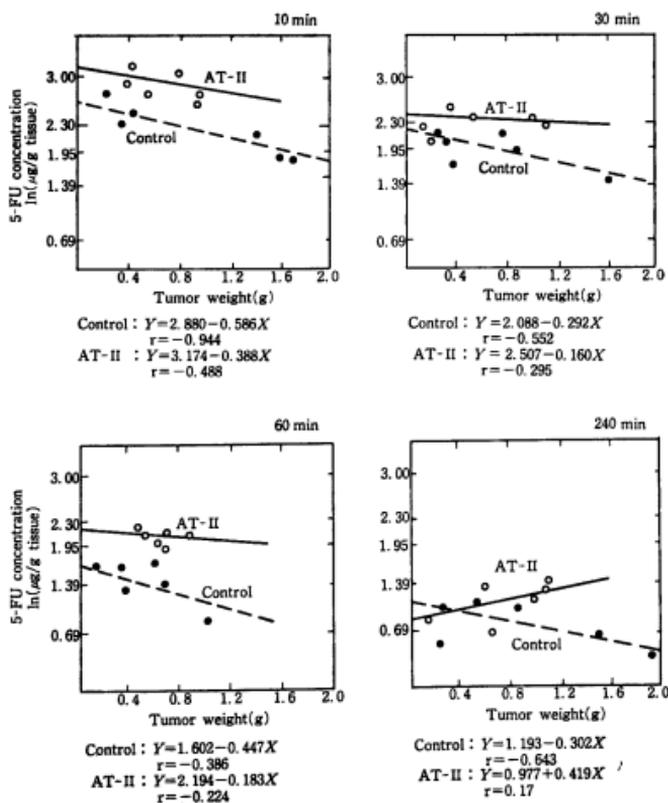
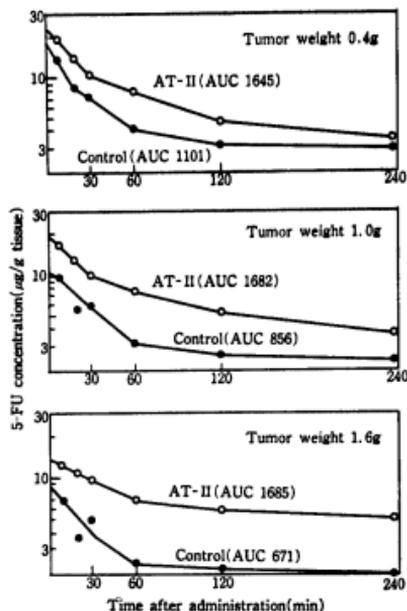


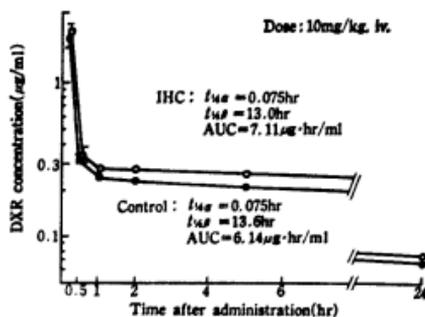
Fig. 4 Change in AUC for 5-FU dependent on tumor weight under angiotensin-induced hypertension chemotherapy



#### 4) 腫瘍重量依存性の 5-FU の AUC の変化

腫瘍重量と制癌剤濃度の関係式から、腫瘍重量別に薬物動態を simulate してみた。その結果、薬剤濃度×時間の積、すなわち AUC は腫瘍重量に依存して変化した。5-FU 投与後対照群における 0.4g の腫瘍の AUC (0~240 min) は 1,101 µg·min/g, 1.0g は 856, 1.6g

Fig. 5 Plasma level of DXR on Sarcoma 180-bearing mice under angiotensin-induced hypertension chemotherapy



は 671 と低下した (Fig. 4)。一方、昇圧群では 0.4g, 1.0g および 1.6g の腫瘍ともに AUC は 1,600 程度と高値で一定し、したがって非昇圧群に対する昇圧群の AUC の比は、0.4g では 1.5 倍、1.6g では 2.5 倍と腫瘍重量が大きくなる程、増加率も大きくなった。

#### C. IHC における DXR の体内動態

##### 1) 血中 DXR 濃度

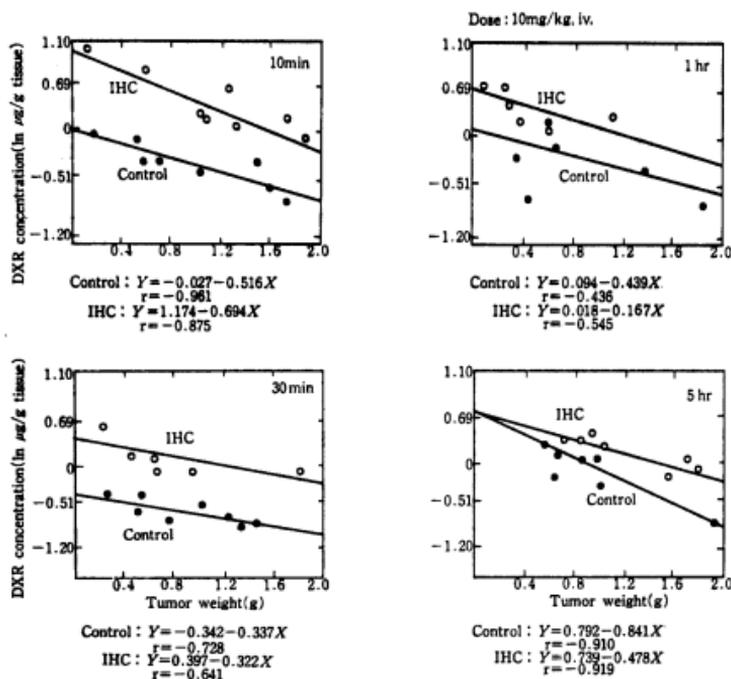
DXR はマウスにおいて、2相性をなし減少した (Fig. 5)。DXR は 30 分までに急激に低下する  $\alpha$  相と、以後 24 時間まで徐々に減少する  $\beta$  相が観察され、対照群の半減期  $t_{1/2\alpha}$  は 4.5 min,  $t_{1/2\beta}$  は 13.6 hr, AUC は 6.14 µg·hr/ml, 一方、昇圧群における  $t_{1/2\alpha}$  は 4.5 min,  $t_{1/2\beta}$  は 13.0 hr, AUC は 7.11 µg·hr/ml となり、両群ほとんど同様であったが、昇圧群の AUC に僅かに増加がみられた。

Table 2 Tissue levels of DXR in Sarcoma 180-bearing mice under angiotensin-induced hypertension chemotherapy

	Control		IHC	
	10 min	120 min	10 min	120 min
Brain	0.168	0.128	0.157	0.115
Heart	24.1	24.3	24.6	25.6
Lung	14.8	12.6	19.0	12.5
Liver	45.6	42.5	30.7	42.4
Spleen	8.21	6.95	6.61	5.18
Kidney	52.1	53.4	56.1	43.2
Stomach	5.61	4.34	4.40	5.18
Intestine	12.3	7.24	12.4	7.32
Muscle	9.1	7.91	6.17	6.78
Skin	3.25	6.07	1.81	2.29
Blood cells	1.44	0.571	2.13	0.934

(µg/g tissue) DXR dose: 10mg/kg, iv

Fig. 6 Relationship between tumor weight and concentration of DXR in Sarcoma 180 tissue. ADR: 10 mg/kg, iv.



## 2) 正常組織内 DXR 濃度

Sarcoma 180 腫瘍マウスに 10 mg/kg の DXR を静注した後、10 分および 120 分における組織内 DXR 濃度を測定した (Table 2, Fig. 7)。DXR の組織内濃度は両群とも血中濃度に比較し高く、特に胸部および腹部の臓器、すなわち腎、肝、心、肺、脾、胃、腸では高濃度に、筋、皮膚、腫瘍、血球、脳では比較的低濃度に分布した。IHC において腫瘍組織を除いてこれら臓器内濃度の有意な変化は認められなかった。

## 3) 腫瘍重量と腫瘍組織内 DXR 濃度との関係

ADR 投与後、10 分、30 分、1 および 5 時間における腫瘍組織内 DXR 濃度と腫瘍重量の関係を調べた。その結果、Fig. 6 に示すように 5-FU 投与時と同様に对照群では重量が増加するに従い、腫瘍組織内濃度は減少し、両者の相関係数は  $-0.916 \sim -0.436$  であり高い相関を示した。昇圧群では DXR 投与 10 分後、非昇圧群と比較して有意に高い濃度の DXR が存在した。しかし、回帰直線の傾きから判断すると、腫瘍中心部にも多量の制癌剤が存在するが、表面部にはさらに多量存在するも

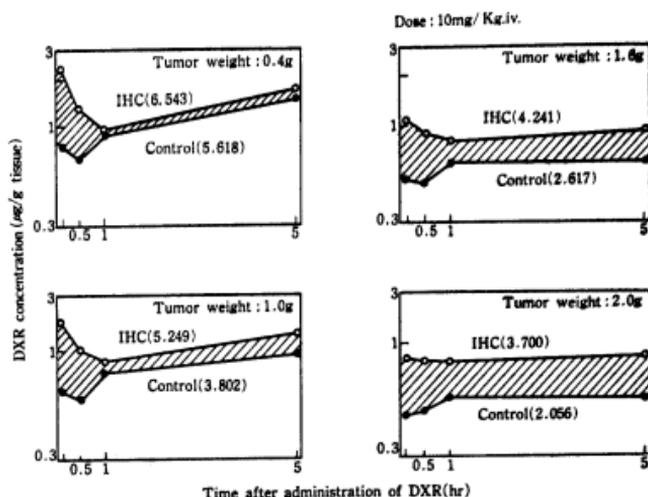
のと思われる。

IHC 群では、30 分、1 時間および 5 時間と時間が経過するにつれ、5-FU 投与時と同様に、腫瘍重量が小さい程 AT-II により大量に侵入した DXR 制癌剤の efflux が大きく、0.4 g の腫瘍では 5 hr 程で对照群の濃度まで減少した。

## 4) 腫瘍重量依存性の DXR の AUC の変化

DXR の对照群の腫瘍組織内濃度は (Fig. 7) 30 分程のラゲの後徐々に濃度が増加し 5 時間程で peak になる。昇圧群においては、最初に大量に流入した DXR は 1 時間まで減少した後再び对照群と同様に増加の傾向を示した。对照群および昇圧群とも小さい腫瘍では制癌剤の腫瘍への取り込み、および消失する速度は速く、大きい腫瘍程制癌剤濃度の変化の割合は少ないように思われた。对照群では 0.4 g の腫瘍における AUC (10 min ~ 5 hr) は 5,618  $\mu\text{g}\cdot\text{hr}/\text{g}$  であったが重量の増加とともに減少し 2.0 g の腫瘍の AUC は 2,056 となった。一方、昇圧群においては 0.4 g の腫瘍の AUC は 6,543、1.0 g では 5,249、1.6 g では 4,241、2.0 g では

Fig. 7 Change in AUC for DXR depends on tumor weight under angiotensin-induced hypertension chemotherapy



3.700と減少した。5-FUの場合は腫瘍重量にかかわらずIHCにより一定して高い値のAUCを示したが、DXRの場合は対照群程顕著ではないが、昇圧群でも腫瘍重量が増加するに従い減少した。

しかし、非昇圧群に対する昇圧群のAUCの増加率を計算してみると、0.4gの腫瘍では1.16倍、1.0gでは1.38倍、1.6gでは1.62倍、2.0gでは1.80倍と5-FU投与時と同様に腫瘍重量が大きい程高い値が得られた。

### III. 考 察

腫瘍の成長とともに腫瘍組織圧が上昇し、腫瘍血管を圧迫しhypovascular areaを形成し<sup>9,10</sup>、ひいては制癌剤と癌細胞との接触を低下させ本来制癌剤に感受性を示す癌細胞でさえも制癌効果の低下を来すことが予想される。昇圧化学療法は、AT-IIによる血圧の上昇により、腫瘍組織における血流量の減少を選択的に補い、腫瘍組織への制癌剤の移行を選択的に増加させ、ひいては腫瘍組織に障害を与えるものと思われる<sup>11,12</sup>。

非昇圧群における5-FUの腫瘍組織への分布は他の正常臓器と比較し高濃度であったが、DXRの分布は比較的低濃度であり、制癌剤の腫瘍組織への分布は腫瘍組織における血流量および血中濃度のほか、さらに薬剤の分子量<sup>13</sup>、脂溶性の差等による組織吸収(吸着)性が複雑に関与するものと思われる。

今回、腫瘍分布性の異なる5-FUおよびDXRの両制癌剤はIHCによる血流量の増加により腫瘍組織に選

択的に制癌剤濃度またはAUCが増加し、正常組織では顕著な増加は認められなかった。

NEDERMAN<sup>14</sup>およびKEER<sup>15</sup>は制癌剤の組織浸透性を調べるため*in vitro*でtumor spheroidsを作り制癌剤と接触させると、5-FUは比較的腫瘍組織に均等に分布するのに反し、vinblastineおよびDXRは腫瘍組織の表層に大部分が分布し腫瘍中心部への到達が少ないことを報告している。

*in vivo*における我々の実験では、非昇圧下では5-FUおよびDXRの両者において腫瘍重量の増加とともに制癌剤濃度の低下がみられ、このことは腫瘍のvascularityを反映して腫瘍中心部への制癌剤の到達性が低下することを示唆するものと思われた。昇圧群における5-FU投与後の腫瘍重量と制癌剤濃度の関係を示す直線の傾きは非昇圧下よりゆるやかとなり、5-FUは腫瘍内に高濃度かつ均等に分布するものと思われる。一方、DXR投与10分後の直線の傾きは昇圧群と非昇圧群で差は認められず、DXRは表層部により多く存在し、制癌剤の組織浸透性とvascularityが複雑に関与することが示唆された。

腫瘍が大きくなるに従い制癌効果も減少することが知られているが<sup>16</sup>、5-FU、DXRの両者ともにIHCによる腫瘍重量が大きい程腫瘍組織内AUCの増加の割合が大きい点は、臨床においても期待がもてるものと思われる。

AT-II投与中止後、腫瘍組織内に多量に侵入した制癌

剤は、再び流失、拡散し、小さい腫瘍程 efflux が大きいことが判明した。最近、鈴木ら<sup>17)</sup>は、血圧降下剤を用い制癌剤の efflux を押さえ、制癌剤を腫瘍組織内に閉じ込める方法を開発している。

以上、昇圧化学療法は腫瘍血管への独特の作用機作をもつため、他の作用機作をもち局所集積性を増す targeted drug delivery system との併用が可能と思われ、これらのことにより一層の化学療法法の改善をもたらすものと思われる。

(謝辞) 本研究の一部は文部省がん特別研究組織助成金「涌井班」によった。なお、5-FU は協和薬業工業(株)、DXR、DXR-OH および aglycone はファルミタリアカルロエルバ(株)より供与された。東北大学および製薬会社の関係各位の御教示および御好意に対し、衷心より謝意を表する。

#### 文 献

- 鈴木磨郎, 佐藤春彦: 制癌剤の高組織到達性に関する実験的研究。癌と化学療法 4(1): 97~102, 1977
- SUZUKI, M.; K. HORI, I. ABE, et al.: A new approach to cancer chemotherapy, selective enhancement of tumor blood flow with angiotensin II. J. Natl. Cancer Inst. 67: 663~669, 1981
- 高橋 徹, 鈴木正徳, 八重樫 弘: 人癌を支配する宿主動脈の変化とくにその癌化学療法における意義について。癌と化学療法 14(3): 942~950, 1987
- 涌井 昭, 佐藤春彦: 腫瘍血管の特性に基づいた昇圧化学療法。癌と化学療法 11(3): 741~749, 1984
- SATO, H.; K. SATO, Y. SATO, et al.: Induced hypertension chemotherapy of cancer patients by selective enhancement of drug delivery to tumor tissue with angiotensin II. Sci. Rep. Res. Inst. Tohoku Univ. C. 28: 32~44, 1981
- 佐藤春彦, 星 正彦, 涌井 昭: 昇圧化学療法による癌の高率。癌と化学療法 13(4): PART II, 1439~1447, 1986
- 藤田 浩: 制癌剤の体内分布一測定法。癌と化学療法 1(3): 497~503, 1974
- FUJITA, H.; K. OGAWA, H. TONE, et al.: Pharmacokinetics of doxorubicin, (2''R)-4'-O-tetrahydropyranlyadriamycin and aclarubicin. Jap. J. Antibiotics 39: 1321~1336, 1986
- 湘 勝義, 鈴木磨郎, 阿部郁夫, 他: 腫瘍増殖に伴う腫瘍血管内外圧差の変化一昇圧化学療法法の基礎として一。癌と化学療法 12(8): 1630~1637, 1985
- HORI, K.; M. SATO, I. ABE, et al.: Increased tumor tissue pressure in association with the growth of rat tumors. Jap. J. Cancer Res. (Gann) 77: 65~73, 1986
- 湘 勝義, 鈴木磨郎, 阿部郁夫, 他: Angiotensin 昇圧時の腫瘍内微小循環の動態, 腫瘍血管面積の拡大。癌と化学療法 12(6): 1323~1330, 1985
- HORI, K.; M. SUZUKI, I. ABE, et al.: Increase in tumor vascular area due to increase blood flow by angiotensin II in rat. J. Natl. Cancer Inst. 74: 453~459, 1985
- 村松保広, 小田達也, 前田 浩: 高分子物質の腫瘍内蓄積性のメカニズム: 高分子型制癌剤の有効性。癌と化学療法 14(3): 821~829, 1987
- NEDERMAN, T.; J. CARLSSON & M. MALQVIST: Penetration of substances into tumor tissue - A methodological study on cellular spheroids. In vitro 17: 290~298, 1981
- KERR, D. J. & S. B. KAY: Aspects of cytotoxic drug penetration, with particular reference to anthracyclines. Cancer Chemother. Pharmacol. 19: 1~5, 1987
- ABE, I.; M. SUZUKI, K. HORI, et al.: Some aspects of size-dependent differential drug response in primary and metastatic tumors. Cancer and Meta. Rev. 4: 27~40, 1985
- 鈴木磨郎, 湘 勝義, 阿部郁夫, 他: 腫瘍血管特性と物質の組織内濃度および滞留時間の促進。日本癌学会総会記事: p. 331, 1986

## PHARMACOKINETICS OF ANTICANCER DRUGS UNDER ANGIOTENSIN II-INDUCED HYPERTENSION CHEMOTHERAPY

MASAAKI OKAMOTO, AYUKO TAKAO and HIROSHI FUJITA

Department of Bacteriology, School of Dental Medicine,  
Tsurumi University, 2-1-3 Tsurumi, Tsurumi-ku, Yokohama 230, Japan

We conducted pharmacokinetic studies on anticancer drugs under angiotensin II (AT-II)-induced hypertension chemotherapy (IHC). AT-II was administered to Sarcoma 180-bearing mice at 1~2  $\mu\text{g}/\text{kg}/\text{min}$  for 5 min to elevate the blood pressure, then 40 mg/kg of 5-fluorouracil (5-FU) or 10 mg/kg of adriamycin (DXR) was administered intravenously and additional AT-II was infused into the tail vein for 10 min.

Results: 1. The level of anticancer drugs in the tumor tissue correlated negatively with the weight of the tumor, suggesting that the anticancer drugs penetrate very little into the deep region of solid tumors.

2. A larger quantity of the anticancer drugs was delivered selectively into the tumor tissue by IHC.

3. The increase of the area under the concentration curve (AUC) for 5-FU under IHC was greater in larger tumors when compared.

4. A lower efflux of the anticancer drug from the tumor tissue was observed in larger tumors under IHC.

5. The pharmacokinetics of 5-FU and DXR under IHC differed each other in detail.