

投与スケジュールによる 5-fluorouracil の抗腫瘍効果

—ヌードマウス移植ヒト胃癌株を用いた検討—

花谷 勇治・小平 進・浅越 辰男
三吉 博・蓮見 直彦・長岡 信彦
帝京大学医学部第一外科*

(平成 6 年 5 月 9 日受付・平成 6 年 6 月 15 日受理)

5-fluorouracil (5-FU) の投与スケジュールが同薬の抗腫瘍効果に与える影響について実験的に検討した。腫瘍はヌードマウス皮下に継代移植されたヒト胃癌株 (SC-1-NU) を用いた。5-FU は連日 (5, 10, 20 mg/kg) あるいは間歇的に (20 mg/kg 2 日毎, 30 mg/kg 3 日毎, 40 mg/kg 4 日毎, 50 mg/kg 5 日毎および 70 mg/kg 7 日毎) 腹腔内に投与した。5-FU を 30 日間連日投与した場合の T/C 比の最小値は, 5 mg/kg 群 54.2%, 10 mg/kg 群 29.6%, 20 mg/kg 群 3.46% であった。20 mg/kg 群の抗腫瘍効果は 10 mg/kg 群の 2 倍よりも有意に良好であった ($p < 0.01$)。5-FU を間歇投与した場合の T/C 比の最小値は, 20 mg/kg 2 日毎投与群 17.2%, 30 mg/kg 3 日毎投与群 17.8%, 40 mg/kg 4 日毎投与群 14.3%, 50 mg/kg 5 日毎投与群 19.9% および 70 mg/kg 7 日毎投与群 29.1% であった。40 mg/kg 4 日毎投与群および 50 mg/kg 5 日毎投与群の相対平均腫瘍重量比は 10 mg/kg 連日投与群に比べ有意に低値を示した ($p < 0.01$, $p < 0.05$)。さらに, 40 mg/kg 4 日毎投与群の抗腫瘍効果は他の間歇投与スケジュール群よりも有意に良好であった ($p < 0.05$)。薬剤投与による毒性死あるいは有意の体重減少は認めなかった。以上より, 5-FU の間歇投与は連日投与よりも高い抗腫瘍効果を期待しうると考えられた。また, その際に投与間隔が重要な因子となることが示唆された。

Key words: 5-fluorouracil, 間歇投与, 投与スケジュール, 胃癌, ニードマウス

悪性腫瘍に対する化学療法の成績をさらに向上させるためには, 抗腫瘍効果の優れた新規薬剤の開発が必須と考えられるが, 現存する薬剤の投与方法を再検討し, 許容範囲内の副作用で, 最大の効果が期待できるよう工夫することも重要と思われる。

5-fluorouracil (5-FU) は開発以来すでに 35 年以上経過しており, 多剤併用療法や biochemical modulation の key drug として繁用されている。しかし, その作用機序ならびに至適投与方法に関する論議は多く, いまだに合意に達していない¹⁾。

そこで, 我々はヌードマウス可移植性ヒト胃癌株を用い, 5-FU の投与スケジュールによる抗腫瘍効果を実験的に再検討したので報告する。

I. 材料と方法

実験動物としては三協ラボサービス(株)より購入した BALB/c ニードマウス (体重 20~25 g の雄) を用い

た。ヌードマウスの飼育は当大学中央動物施設のアイソラック内で行い, 滅菌した水と飼料を与えた。

腫瘍は名古屋大学医学部第一外科で樹立されたヌードマウス可移植性ヒト胃癌株, SC-1-NU (低分化型腺癌, 慶応義塾大学医学部外科の久保田哲朗博士より分与された) を用いた。腫瘍の継代に際しては, 眼科用ハサミで 3 mm 角に細切した腫瘍ブロック 1 個をマウス両側背部皮下にトロカール針を用いて移植した。

薬剤は協和発酵(株)より供与された注射用 5-FU (50 mg/ml) を使用した。投与経路は腹腔内投与とし, ① 5, 10, 20 mg/kg を毎日 1 回, 30 日間投与したほか, ② 投与スケジュールによる効果を比較するため, 10 mg/kg を連日 60 回, 20 mg/kg を隔日に 30 回, 30 mg/kg を 3 日毎に 20 回, 40 mg/kg を 4 日毎に 15 回および 50 mg/kg を 5 日毎に 12 回 (総投与量はいずれも 600 mg/kg) 投与した。なお, ②とは別時

* 東京都板橋区加賀 2-11-1

期の実験であるが、10 mg/kg を連日 28 回および 70 mg/kg を 7 日毎に 4 回投与し、増殖抑制効果を比較した。

治療実験はヌードマウス移植がんを用いた抗がん剤スクリーニングのためのプロトコル²⁾ (Battelle Columbus Laboratories protocol) にしたがって実施した。すなわち、腫瘍を移植後、週 3 回、長径 (L) と短径 (W) を mm 単位で測定した。各測定時にプロトコルに示されている計算式 ($L \times W^2 / 2$) により推定腫瘍重量を算出した。治療実験は推定腫瘍重量が 100~300 mg に達した時点で開始した。治療開始後は対照群および各治療群について相対腫瘍重量 (RW; relative mean tumor weight), すなわち各測定時の推定腫瘍重量 (Wi) と治療開始時の推定腫瘍重量 (Wo) との比 (W_i/W_o) を求めた。RW の T/C の最低値が 42% 以下となった場合 (腫瘍増殖抑制効果) を有効 (+), RW が 1.0 未満となった場合 (腫瘍退縮効果) を著効 (++) と判定した。

推計学的検定には t 検定を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

II. 成績

1) 連日投与による抗腫瘍効果

5, 10, 20 mg/kg の 5-FU を 1 日 1 回 30 日間連日投与した場合 (各群とも $n=6$) の RW の T/C 比の推移を Fig. 1 に示した。いずれの投与量でも RW の T/C 比は、治療開始より約 2 週間にわたり比較的速やかに低下した後、プラトー状となるパターンを呈した。T/C 比の最低値は 5 mg/kg 投与群 54.2%, 10 mg/kg 投与群 29.6%, 20 mg/kg 投与群 3.46% であ

り、10 mg/kg 投与群および 20 mg/kg 投与群が有効 (+) と判定された。20 mg/kg 投与群は全体としては著効とは判定できなかったものの、半数 (3/6) に腫瘍退縮 (RW < 1.0) を認めた。10 mg/kg 投与群の成績は 5 mg/kg 投与群の成績のほぼ 2 倍であったが、20 mg/kg 投与群は 10 mg/kg 投与群の 2 倍より有意に良好な成績を示した ($p < 0.01$)。

いずれの群にも毒性死はなく、体重減少にも群間差を認めなかったが、20 mg/kg 投与群の 1 匹に 4 g 以上の体重減少を認めた。

2) 投与スケジュールによる成績の比較

治療開始後 30 日以上 (移植後 40 日以上) 経過すると、対照群の腫瘍が中心壊死を起こすため、RW の

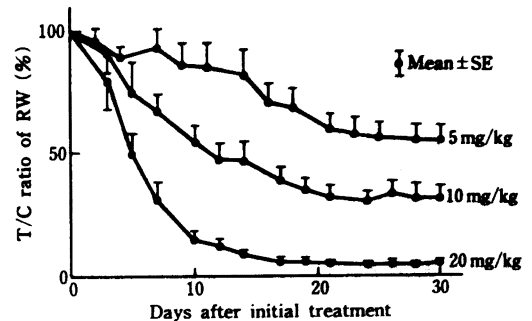


Fig. 1. Antitumor effect of 5-fluorouracil against SC-1-NU.

Each dose of the drug was administered daily for 30 days. Each group consists of 6 tumors.

Table 1. Effects of 5-FU according to the schedule of administration

a) Antitumor effects (Mean ± SD)			
	lowest T/C of RW	RW on day 30	RW on day 60
10 mg × 60 (n=6)	28.7 ± 13.1 %	16.1 ± 7.38	29.8 ± 9.26
20 mg × 30 (n=5)	17.2 ± 5.68%	12.2 ± 6.72	34.6 ± 28.9
30 mg × 20 (n=6)	17.8 ± 8.74%	9.55 ± 5.67	23.1 ± 7.76
40 mg × 15 (n=6)	14.3 ± 6.80*	7.63 ± 3.62*	14.5 ± 2.60**
50 mg × 12 (n=5)	19.9 ± 5.79%	11.5 ± 3.55	16.9 ± 8.24*
* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$			
b) Adverse effects			
	Toxic death	Loss of BW ≥ 4 g	Max. loss of BW (g)
10 mg × 60 (n=4)	0/4	0/4	2.23 ± 1.11
20 mg × 30 (n=4)	0/4	0/4	2.73 ± 0.90
30 mg × 20 (n=4)	0/4	1/4	3.38 ± 0.78
40 mg × 15 (n=4)	0/4	2/4	3.70 ± 1.40
50 mg × 12 (n=4)	0/4	0/4	2.45 ± 0.29

T/C比の算出は不能となった。治療開始後30日目までのRWのT/C比の最小値は、間歇投与群では20 mg/kg 隔日投与群17.2%，30 mg/kg 3日毎投与群17.8%，40 mg/kg 4日毎投与群14.3%，50 mg/kg 5日毎投与群19.9%で、10 mg/kg 連日投与群の28.7%に比べ、いずれも良好な成績を示した。このうち、40 mg/kg 4日毎投与群の成績は10 mg/kg 連日投与群のそれに比べ有意に低値を示した ($p < 0.05$, Table 1)。

10 mg/kg 連日投与群と間歇投与群の増殖曲線の比較をFigs. 2~5に示した。対照群に対する配慮から、

当初は30日間の実験を計画していたが、連日投与群と間歇投与群の差が次第に大きくなり、40 mg/kg 4日毎投与群で27日目に初めて有意差を認めたことから、実験を継続することとした。

40 mg/kg 4日毎投与群ではその後も良好な腫瘍増殖抑制効果が続き、連日投与群との差が明らかとなった ($p < 0.001$, Fig. 4)。また、50 mg/kg 5日毎投与群では50日目前後より腫瘍増殖抑制が認められ、実験終了直前に連日投与群との間に有意差が得られた ($p < 0.05$, Fig. 5)。一方、20 mg/kg 隔日投与群では40日以降に急速に増大した腫瘍があり、連日投与群との差が縮小した (Fig. 2)。30 mg/kg 3日毎投与群では32日目から39日目にかけ、連日投与群と差のある傾

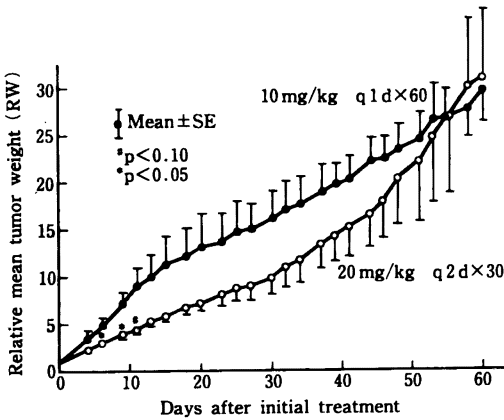


Fig. 2. Antitumor effect of 5-fluorouracil according to dosage schedule. Comparison between 10 mg/kg q1d x 60 and 20 mg/kg q2d x 30.

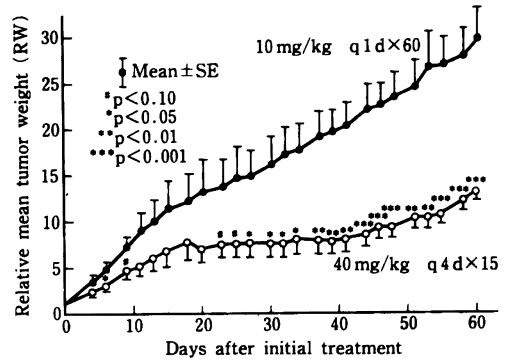


Fig. 4. Antitumor effect of 5-fluorouracil according to dosage schedule. Comparison between 10 mg/kg q1d x 60 and 40 mg/kg q4d x 15.

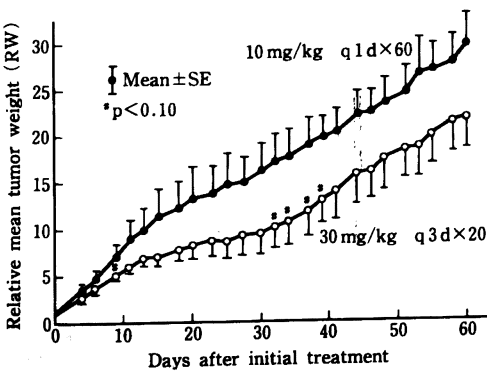


Fig. 3. Antitumor effect of 5-fluorouracil according to dosage schedule. Comparison between 10 mg/kg q1d x 60 and 30 mg/kg q3d x 20.

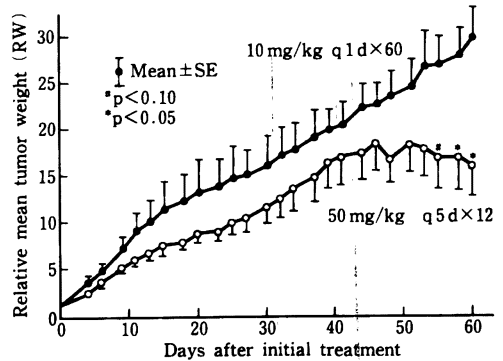


Fig. 5. Antitumor effect of 5-fluorouracil according to dosage schedule. Comparison between 10 mg/kg q1d x 60 and 50 mg/kg q5d x 12.

向を認めたが ($p < 0.10$), 有意差を得るには至らなかった (Fig. 3)。

間歇投与群間の比較では, 40 mg/kg 4日毎投与群の成績がもっとも良好で, 20 mg/kg 隔日投与群 (39日目~48日目), 30 mg/kg 3日毎投与群 (48日目~62日目) および 50 mg/kg 5日毎投与群 (34日目~53日目) の成績との間に有意差を認めた ($p < 0.05$, Fig. 6)。

28日間までの観察ではあるが, 10 mg/kg 連日投与群と 70 mg/kg 7日毎投与群の増殖曲線には差を認めなかった (Fig. 7)。実験期間中における RW の T/C 比の最小値は各々 29.6%, 29.1%, 実験終了時の腫瘍重量は各々 $1,785 \pm 974$ mg, $1,484 \pm 709$ mg であり, 両群間に差を認めなかった。

いずれの群にも毒性死はなく, 体重減少にも群間差

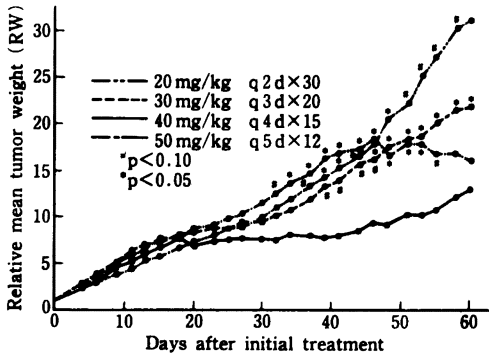


Fig. 6. Antitumor effect of 5-fluorouracil according to dosage schedule. Comparison among intermittent dosage groups.

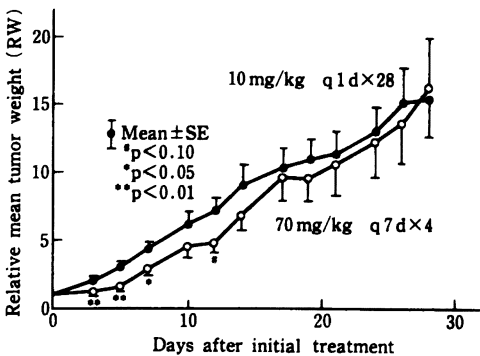


Fig. 7. Antitumor effect of 5-fluorouracil according to dosage schedule. Comparison between 10 mg/kg q1d x 28 and 70 mg/kg q7d x 4.

を認めなかった。しかし, 30 mg/kg 3日毎投与群と 40 mg/kg 4日毎投与群の体重減少は他の群に比べてやや大きく, 4g以上の体重減少を前者に1匹, 後者に2匹認めた。

III. 考 察

5-FUは代表的な代謝拮抗剤の一つであり, その効果は *in vitro* の検討から薬剤濃度よりも, 有効濃度以上の薬剤との接触時間 (濃度曲線下面積) に依存すると考えられている³⁾。また, 投与時間を長くするほど副作用が軽減することが報告されており⁴⁾, 5-FUの投与方法としては少量頻回投与か継続投与が推奨されている。しかし, 太田⁵⁾はラットを用いた肝動注実験で, 短時間で投与した方が持続投与するよりも良好な効果を示すと報告している。また, 優れた臨床効果をあげつつある methotrexate との時間差併用療法⁶⁾では, 5-FUは週1回の間歇投与となっている。したがって, 5-FUの至適投与方法に関してはいまだに結論が得られていないと思われる。

現在までのところ, 5-FUの作用機序には二面性があり, 少量頻回あるいは持続投与では thymidylate synthetase を不活化することにより DNA 合成を阻害するのに対し, 高用量を短時間で投与した場合には RNA に取り込まれ, r-RNA の maturation を阻害することにより抗腫瘍効果を示すと考えられている⁷⁾。

連日投与実験の成績をみると, 10 mg/kg 投与群の成績は 5 mg/kg 投与群の 1.8 倍であり, ほぼ dose-response の関係にあった。一方, 20 mg/kg 投与群の成績は 10 mg/kg 群の 8.6 倍, 5 mg/kg 投与群の 15.7 倍であり, 投与量による成績の差が著しかった。

5-FU は dihydrouracil dehydrogenase の作用により, 肝を中心とする組織内で速やかに代謝される。この酵素的異化作用は 5-FU の投与量が少ないか, または投与速度が遅い場合には, 投与量依存性に効率的に行われる。一方, 短時間に大量の 5-FU を投与した場合には, 酵素の作用が飽和されるため, 血中の濃度曲線下面積が加速度的に大きくなり, 効果が増大すると考えられている⁸⁾。磯部ら⁹⁾はヌードマウスを用いた腹腔内投与実験で, 5-FU の分解が低下する turning point は 60 mg/kg であると報告している。しかし, その成績を詳細にみると, 20 mg/kg の成績は 10 mg/kg に比べ, 最高血中濃度で 4.1 倍, 濃度曲線下面積で 5.4 倍高値を示しており, 10 mg/kg と 20 mg/kg の間にも turning point が存在する可能性があると思われる。

投与スケジュールによる成績を比較した結果, 4日

までは投与間隔をあけて1回投与量を大きくするほど、抗腫瘍効果が増大したが、それ以上投与間隔をあけると効果の低下を認めた。本実験系では持続投与の成績は不明であるが、少量分割投与に比べ、大量間歇投与の有用性が示されたといえる。また、最大の効果を得るためには、投与間隔に対する配慮が重要と考えられた。

本剤は代謝拮抗剤であり、効果発現までに時間を要するが、逆に考えれば、その期間中は効果が持続するともいえる。また、5-FUの血中消失半減期は10～20分と短い、その活性型代謝物5-fluoro-2'-deoxyuridine-5'-monophosphate (5-FdUMP)は投与後数日間も組織中に残存するとの報告もある¹⁾。

抗癌剤の作用は腫瘍選択性が低く、抗腫瘍効果と副作用が平行することは止むを得ないと考えられている。したがって、副作用では差を認めない投与スケジュールで、有意に強い抗腫瘍効果が得られたことは意義あることと思われる。

今後は大量間歇投与における好成績がいかなる機序によって得られるかを追求するとともに、他の腫瘍株についても同様な結果が得られるか否かを検討する予定である。

稿を終るにあたり、動物の飼育管理に御協力いただいた本学中央動物施設の田村 弘助教授ならびに職員各位に感謝します。

文 献

- 1) 古江 尚: 弗化ピリミジン化合物—投与方法—。癌と

化療11:2329～2334, 1984

- 2) Ovejera A A, Houchens D P, Barker A D: Chemotherapy of human tumor xenografts in genetically athymic mice. *Ann Clin Lab Sci* 8: 50～56, 1978
- 3) 下山正徳, 木村禧代二: 各種抗がん剤のin vitroにおける殺細胞作用について—L-1210細胞を中心に—。最新医28:1024～1040, 1973
- 4) Lokich J, Bothe A, Fine N, Perri J: Phase I study of protracted venous infusion of 5-fluorouracil. *Cancer* 48:2565～2568, 1981
- 5) 太田 潤: 動注化学療法における5-fluorouracilの至適投与方法に関する実験的研究(第1報)—持続動注モデル動物の作成と5-fluorouracilの投与方法による効果と副作用の比較—。癌と化療10:2353～2361, 1983
- 6) 村上 稔, 太田和雄: MTX-5-FU研究の現況。癌と化療15:409～417, 1988
- 7) 稲葉 實: 薬剤耐性機構と克服; g. 5-FU耐性。current review 癌化学療法1990～91(鶴尾 隆・西條長宏編), p. 84～90, 中外医学社, 東京, 1990
- 8) 藤田 浩: 弗化ピリミジン化合物の生体内動態。癌と化療11:2307～2315, 1984
- 9) Isobe Y, Kubota T, Asanuma F, Kurihara H, Inada T, Fukutomi T, Ishibiki K, Abe O: Pharmacodynamic aspects of in vitro and in vivo chemosensitivity tests. *Jpn J Cancer Res* 78:983～990, 1987

Antitumor effect of 5-fluorouracil according to the schedule of administration

—Experimental study on human stomach cancer serially transplanted into nude mice—

Yuji Hanatani, Susumu Kodaira, Tatsuo Asagoe, Hiroshi Miyoshi,
Tadahiko Hasumi and Nobuhiko Nagaoka

First Department of Surgery, Teikyo University School of Medicine, Tokyo, Japan

The antitumor effect of 5-fluorouracil (5-FU) was studied experimentally according to the dosage schedule of the drug. Human stomach cancer (SC-1-NU) serially transplanted subcutaneously to nude mice was used for the experiment. 5-FU was administered intraperitoneally, daily (5, 10, 20 mg/kg) or intermittently (20 mg/kg q 2 d, 30 mg/kg q 3 d, 40 mg/kg q 4 d, 50 mg/kg q 5 d and 70 mg/kg q 7 d). The minimal T/C ratios when 5-FU was administered daily for 30 days were 54.2% (5 mg/kg), 29.6% (10 mg/kg) and 3.46% (20 mg/kg). The antitumor effect of 20 mg/kg was significantly better than twice of the effect of 10 mg/kg ($p < 0.01$). The minimal T/C ratios when 5-FU was administered intermittently were 17.2% (20 mg/kg q 2 d), 17.8% (30 mg/kg q 3 d), 14.3% (40 mg/kg q 4 d), 19.9% (50 mg/kg q 5 d) and 29.1% (70 mg/kg q 7 d). Relative mean tumor weights at 40 mg/kg q 4 d \times 15 and 50 mg/kg q 5 d \times 12 were significantly smaller than those at 10 mg/kg q 1 d \times 60 ($p < 0.01$, $p < 0.05$ respectively). Moreover, the antitumor effects of 40 mg/kg q 4 d \times 15 were significantly stronger than those of other intermittent doses ($p < 0.05$). No toxic death or significant loss of body weight were experienced in any group. It was suggested that 5-FU might be more effective under intermittent administration than daily dosage, and that the dosage interval of the drug was important to obtain the superior effect.