

## 5-fluorouracil bolus 投与による代謝拮抗作用

—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・長岡 信彦・三吉 博・浅越 辰男

帝京大学医学部第一外科\*

(平成 8 年 1 月 23 日受付・平成 8 年 4 月 11 日受理)

ヌードマウス移植ヒト胃癌株 (SC-1-NU) を用い、5-fluorouracil (5-FU) bolus 投与による腫瘍組織内の thymidylate synthase (TS) および RNA 中に取り込まれた 5-FU (F-RNA) の変動を検討した。TS 阻害率は 5-FU 投与後速やかに高値に達した (40 mg/kg; 93.4 %, 10 mg/kg; 74.9 %)。一方、F-RNA はピーク (40 mg/kg; 111 ng/mg-RNA, 10 mg/kg; 21.8 ng/mg-RNA) に達するまでに 12 時間を要した。ピーク以後の TS 阻害率および F-RNA の低下は緩やかで、特に 40 mg/kg 投与では、96 時間後でもある程度の作用 (TS 阻害率; 40.1 %, F-RNA; 31.1 ng/mg-RNA) を持続していた。治療実験に準じた連続投与 (40 mg/kg 4 日毎投与および 10 mg/kg 連日投与) では、TS 阻害率および F-RNA の最低値は次第に高値となる傾向を認めた。5-FU bolus (特に大量) 投与では DNA および RNA に対する作用の持続性が認められ、間歇投与でも良好な抗腫瘍効果を期待しうると考えられた。

**Key words:** 5-fluorouracil, bolus 投与, TS, F-RNA, ヌードマウス

我々はヌードマウス移植ヒト胃癌株 (SC-1-NU) に対し、5-fluorouracil (5-FU) の大量間歇投与が優れた抗腫瘍効果 (最小 T/C 比は 10 mg/kg qd; 29.6 %, 20 mg/kg q2d; 17.2 %, 30 mg/kg q3d; 17.8 %, 40 mg/kg q4d; 14.3 %) を示すことを報告した<sup>1)</sup>。本報では、この機序を知るため、5-FU 投与による腫瘍組織内の thymidylate synthase (TS) および RNA 中に取り込まれた 5-FU (F-RNA) の変動を検討した。

動物は BALB/c ヌードマウスを、腫瘍は名古屋大学医学部で樹立され、5-FU に高感受性を示すヒト胃癌株、SC-1-NU (低分化型腺癌) を用いた。3 mm 角に細切した腫瘍ブロック 1 個をマウスの両側背部に皮下移植した。5-FU 単回投与による TS と F-RNA の変動を検討するため、推定腫瘍重量が 1 g 前後に達した時点で 5-FU 40 mg/kg あるいは 10 mg/kg を腹腔内投与し、1, 3, 6, 12, 24, 48, 96 時間後にマウスを屠殺し、腫瘍を摘出した。また、治療実験に準じた 5-FU 連続投与による TS と F-RNA の変動を検討するため、推定腫瘍重量が 100 mg 前後に達した時点より 5-FU 40 mg/kg を 4 日毎に (40 mg/kg q4d)、あるいは 10 mg/kg を連日 (10 mg/kg qd) 腹腔内投与し、治療開始後 8, 16, 24 日目にマウスを屠殺し、腫瘍を摘出した (腫瘍の摘出時期は 40 mg/kg q4d では最終投与の 96 時間後、10 mg/kg qd では最終投与の 24 時間後であり、両群の作用の最低値の推移を測定したことになる)。TS は Spears ら<sup>2)</sup>の方法に準じて測定した。腫瘍組織ホモジネートを超音波処理し、高速遠心分離によりサイトゾ

ル画分を採取した。これを二分し、一方はそのまま (TS free)、他方は pH 8.1 の重炭酸アンモニウムバッファーと等量混和し、25°C で 3 時間インキュベートした後 (TS total)、<sup>3</sup>H ラベルした 5-fluorodeoxyuridine monophosphate および 5,10-methylenetetrahydrofolate と反応させ、生ずる ternary complex の放射活性を測定した。TS total に対する TS complex (TS total - TS free) の百分率を求め、TS 阻害率とした。F-RNA は Schmidt-Thanhauser 法<sup>3)</sup>により腫瘍組織ホモジネートから RNA を抽出し、その中に含まれる 5-FU を、キャピラリーガスクロマトグラフマスマスペクトロメトリー (GC-MS) を用いて測定した<sup>4)</sup>。

5-FU 単回投与では、投与後初回の測定時点で最大の TS 阻害 (40 mg/kg; 93.4 %, 10 mg/kg; 74.9 %) を認めた。TS 阻害率は 5-FU 投与後 6 時間までは急激に低下したが、それ以後は緩やかに減衰する二相性の変動を示した。特に、40 mg/kg では、96 時間後でも TS 阻害率が 40.1 % と、作用の持続性が認められた (Fig. 1)。5-FU 連続投与では、5-FU の投与回数が増すにつれ TS 阻害率の最低値は次第に高まり、40 mg/kg q4d では 62.9 %, 10 mg/kg qd では 52.4 % に達した (Fig. 2)。また、TS free は次第に低下し、40 mg/kg q4d では無処置対照の 22.4 %, 10 mg/kg qd では無処置対照の 36.5 % に達した。

F-RNA も 5-FU 単回投与後早期より高値を示したが、ピーク (40 mg/kg; 111 ng/mg-RNA, 10 mg/kg; 21.8 ng/mg-RNA) に達するまでに 12 時間を要した。

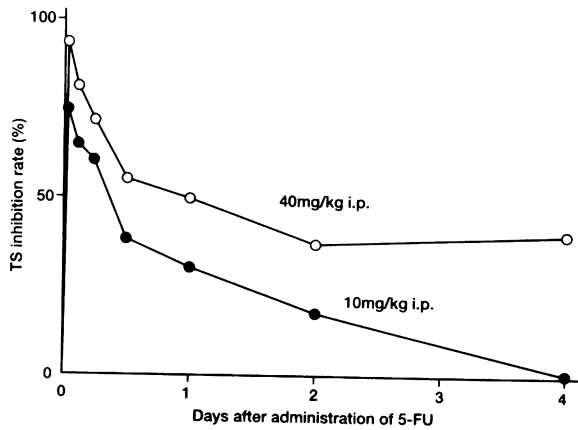


Fig. 1. Changes in thymidylate synthase inhibition rate after bolus dosage of 5-fluorouracil.

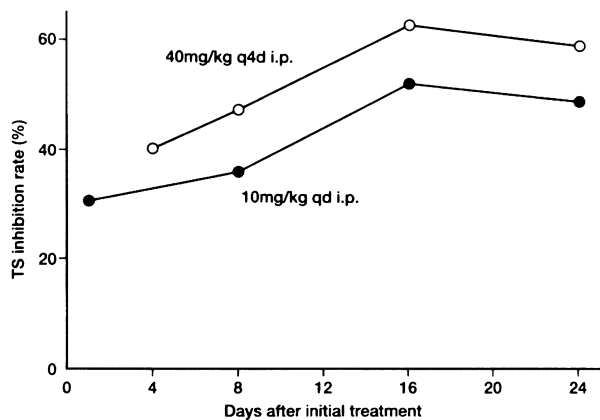


Fig. 2. Changes in thymidylate synthase inhibition rate after successive dosage of 5-fluorouracil (minimal value of each dosage).

ピーク後の F-RNA の低下は緩やかで、40 mg/kg 投与では 96 時間後でも 31.1 ng/mg-RNA と高値を維持していた (Fig. 3)。5-FU 連続投与では、5-FU の投与回数が増すにつれ、F-RNA の最低値は次第に高まり、40 mg/kg 投与では 58.9 ng/mg-RNA、10 mg/kg 投与では 95.3 ng/mg-RNA に達した (Fig. 4)。

5-FU は代表的な代謝拮抗薬であり、DNA と RNA の双方に作用をおよぼすが、持続投与では前者に、大量 bolus 投与では後者に、より強く作用するとされている<sup>5)</sup>。In vitro の検討では、5-FU の抗腫瘍効果は薬剤濃度よりも、有効濃度以上の薬剤と腫瘍細胞との接触時間に依存するとされている<sup>6)</sup>。5-FU を bolus 投与した場合の血中半減期は 10~20 分と短く、5-FU の有効血中濃度を長時間にわたって維持するために持続投与が推奨されている。一方、bolus 投与であっても、5-FU の活性代謝物の組織内濃度は数日間持続することが動物実験で示されており<sup>7)</sup>、5-FU の大量間歇投与療法の理論的根拠とされている。

今回、我々はヒト胃癌組織を用いて bolus 投与した 5-FU の作用を検討した。その結果、RNA 中への取り

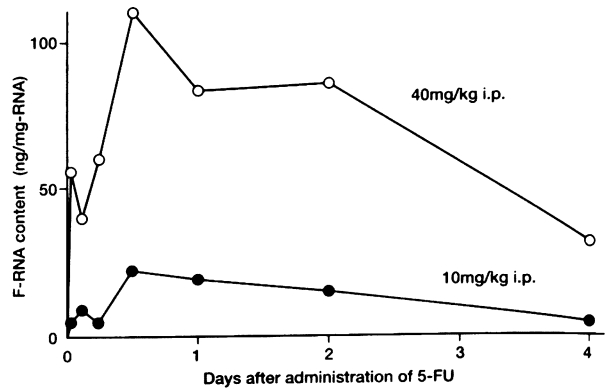


Fig. 3. Changes in 5-fluorouracil incorporated into RNA after bolus dosage of drug.

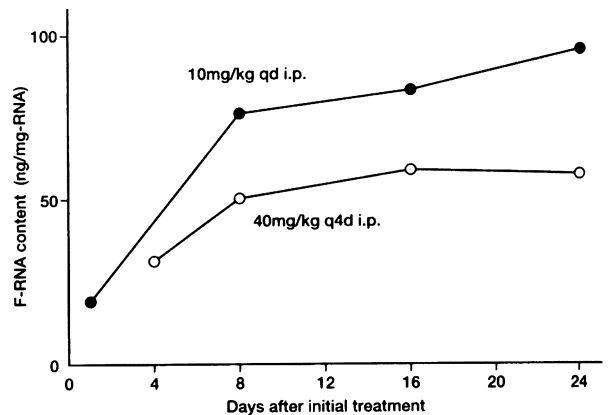


Fig. 4. Changes in 5-fluorouracil incorporated into RNA after successive dosage of drug (minimal value of each dosage).

込みだけでなく、DNA 合成の律速酵素である TS の阻害についても、5-FU の作用は血中動態から予想されるよりはるかに持続的であった。特に、5-FU の投与量が多い場合には、作用の持続性が顕著であり、間歇投与でも優れた抗腫瘍効果が期待できると考えられた。

なお、5-FU 連続投与時の F-RNA の変動は、両群の最低値の推移を示したため、10 mg/kg 連日投与の方が良好な結果となった。しかし、最低値とともに最高値も高くなっている可能性が大きく、曲線下面積で比較すれば、40 mg/kg 4 日毎投与の方が良好な成績になると予想される。

稿を終るにあたり、TS および F-RNA の測定にご協力いただいた協和発酵工業(株)に感謝します。

#### 文 献

- 1) 花谷勇治, 小平 進, 浅越辰男, 三吉 博, 長岡信彦: 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—. 日化療誌 42: 1015~1020, 1994
- 2) Spears C P, Shahinian A H, Moran R G, Heiderberger C, Corbett T H: In vivo kinetics of thymidylate synthetase inhibition in 5-fluorouracil-sensitive and -resistant murine colon adenocarcino-

- mas. *Cancer Res* 42: 450~456, 1982
- 3) Schneider W C: Phosphorus compounds in animal tissues. III. A comparison of methods for the estimation of nucleic acids. *J Biol Chem* 221: 747~751, 1946
  - 4) 内田淳二, 梅野幸彦, 武田節夫: フッ化ピリミジン系抗腫瘍剤投与後の腫瘍内 RNA 中の 5-fluorouracil 量と抗腫瘍効果との関連性についての基礎検討。癌と化療 19: 677~683, 1992
  - 5) 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・西篠長宏編), p. 84~90, 中外医学社, 東京, 1990
  - 6) 下山正徳, 木村禎代二: 各種抗腫瘍剤の *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
  - 7) Chadwick M, Rogers W I: The physiological disposition of 5-fluorouracil in mice bearing solid L 1210 lymphocytic leukemia. *Cancer Res* 32: 1045~1056, 1972

## An experimental study on antimetabolic action by bolus dosage of 5-fluorouracil, using a human stomach cancer xenograft to nude mice

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

First Department of Surgery, Teikyo University School of Medicine,  
2-11-1 Kaga, Itabashi-ku, Tokyo 173, Japan

We studied changes in thymidylate synthase (TS) activity and 5-fluorouracil (5-FU) incorporated into RNA (F-RNA) after a bolus dosage of 5-FU, using a human stomach cancer xenograft to nude mice (SC-1-NU). The TS inhibition rate (TSIR) reached high levels (40 mg/kg; 93.4%, 10 mg/kg; 74.9%) soon after dosage of 5-FU. F-RNA took 12 hours to reach a peak (40 mg/kg; 111 ng/mg-RNA, 10 mg/kg; 21.8 ng/mg-RNA). After the peaks, both TSIR and F-RNA decreased slowly. Especially at a bolus dosage of 40 mg/kg of 5-FU, TSIR and F-RNA maintained certain levels (TSIR; 40.1%, F-RNA; 31.1 ng/mg-RNA) even at 96 hours after dosage of the drug. TSIR and F-RNA increased gradually after successive doses of 5-FU (40 mg/kg q4d and 10 mg/kg qd). Bolus dosage (especially large doses) of 5-FU showed a prolonged effects on DNA and RNA, suggesting that intermittent bolus dosage of 5-FU could be expected to have good antitumor effects.