

UFT 投与後の尿路上皮腫瘍内 thymidylate synthase 阻害と 5-Fluorouracil 濃度に関する検討

福井医科大学泌尿器科学教室 (主任: 岡田謙一郎教授)

蟹本 雄右, 鈴木 裕志, 三輪 吉司

秋野 裕信, 磯松 幸成, 岡田謙一郎

THYMIDYLATE SYNTHASE INHIBITION AND CONCENTRATION OF 5-FLUOROURACIL AFTER ADMINISTRATION OF UFT IN HUMAN UROEPITHELIAL CARCINOMAS

Yusuke Kanimoto, Yuzi Suzuki, Yosiji Miwa,
Hironobu Akino, Yukishige Isomatsu and Kenichiro Okada

From the Department of Urology, Fukui Medical School

Inhibition of thymidylate synthase (TS) and the concentration of tegafur, 5-FU and uracil in the tumor and the non-tumor tissues were compared in 18 uroepithelial cancer patients who had been administered UFT (600 mg/day) for seven days before operation. 5-FU and uracil levels in the tumor tissue were increased to 5.1 and 3.6 fold, respectively, compared those in the normal tissue, although there was no difference in tegafur levels between normal and tumor tissue. The mean inhibition rate of TS activity in the tumor tissue was significantly higher (36%) than that in the normal tissue (21%).

However, no correlation between 5-FU level and inhibition rate of TS activity was found in either tissue. Not only the higher tumor concentration of 5-FU but also the higher inhibition of TS activity in the tumor tissue suggests that UFT is likely a useful drug for the treatment of uroepithelial carcinomas.

(Acta Urol. Jpn. 37: 229-233, 1991)

Key words: UFT, Uroepithelial carcinoma, 5-Fluorouracil, Thymidylate synthase

緒 言

5-fluorouracil (5-FU)¹⁾ およびその誘導体は単剤あるいは併用療法剤として現在最もよく用いられている抗癌剤の一つであり, 主に消化器癌や乳癌に使用されている^{2,3)}. しかし泌尿器科領域悪性腫瘍での基礎的検討や臨床試験はその数も少なく, 成績も必ずしも満足するべきものではない. これは 5-FU の抗癌スペクトラムが主に腺癌であるとされること⁴⁾, および泌尿器癌組織での 5-FU の集積が必ずしも高くないとされているためであろう. UFT は 5-FU 誘導体である tegafur (FT) と非抗癌物質 uracil を 1:4 で配合した薬剤であり, 腫瘍組織内の 5-FU 濃度が選択的に高値になることが知られている.

今回われわれは尿路上皮腫瘍を対象に UFT の術前投与を行い, 手術時に摘出した腫瘍組織, 正常組織

および血中の FT, 5-FU, uracil 濃度の測定を行うとともに, 腫瘍組織, 正常組織の total および free の thymidylate synthase (TS) の測定を行い, FdUMP による TS 阻害率について検討した.

対象および方法

1. 対象患者と試料の採取

1988年5月から1989年7月の間に, 福井医科大学泌尿器科で全摘手術が行われた尿路上皮悪性腫瘍 18 例 (膀胱癌14例, 腎盂尿管癌4例) を対象とした. 内訳は男性13例, 女性5例, 年齢は42歳から82歳まで, 平均65.6歳であった. 組織型は移行上皮癌17例, 腺癌 (印環細胞癌) 1例であった. 投与方法は UFT に含まれる tegafur 量として1日量 600 mg を分3で7日間, 手術当日朝 (AM 7:00) まで連続経口投与した. 最終薬剤投与から手術標本摘出までの時間は5

時間から8時間まで、平均5.6時間であった。組織は摘出後、速やかに肉眼的に腫瘍部分と正常部分とに分け、それぞれ約1gを切り出した。また標本摘出時に採血も併せて行ない組織、血清は測定まで -20°C で凍結保存した。

2. Tegafur, 5-FU および Uracil の測定

Tegafur の測定は血中、組織内ともに HPLC 法を用いて、5-FU および uracil の測定は丸中ら⁵⁾による gas-chromatographic-mass fragmentographic method (GCMF 法) により測定した。

3. Thymidylate synthase (TS) 活性の測定

ビリミジン代謝の de novo 経路に位置する TS 活性は組織内 5-FU の測定と同様の腫瘍組織、正常組織を切り出して Spear の変法⁶⁾により TS total, TS free の測定を行ない、TS 阻害率を次の式から求めた。

$$\text{TS 阻害率 (\%)} = (\text{TS total} - \text{TS free}) / \text{TS total} \times 100$$

4. 推計学的検討

対応のない比較には、student's t test を、対応のある物には paired t test を用いて統計処理を行った。

結 果

1. Tegafur, 5-FU, uracil の組織内濃度および血中濃度

Fig. 1~3 に tegafur, 5-FU および uracil の摘出

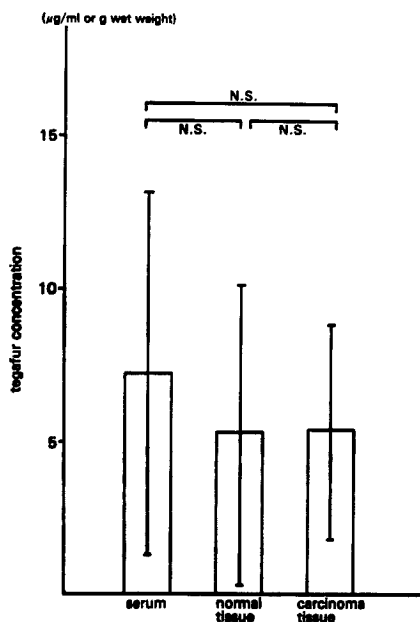


Fig. 1. Concentration of tegafur in serum, normal tissue and carcinoma tissue

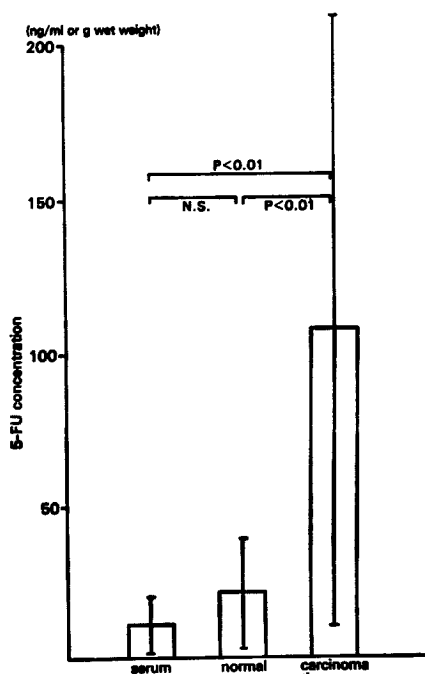


Fig. 2. Concentration of 5-FU in serum, normal tissue and carcinoma tissue

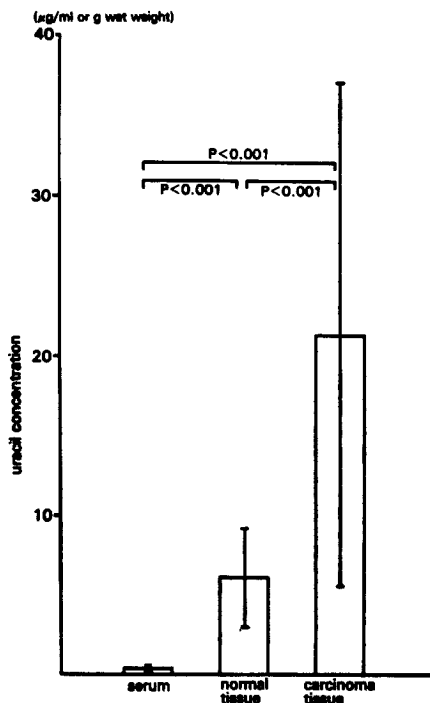


Fig. 3. Concentration of uracil in serum, normal tissue and carcinoma tissue

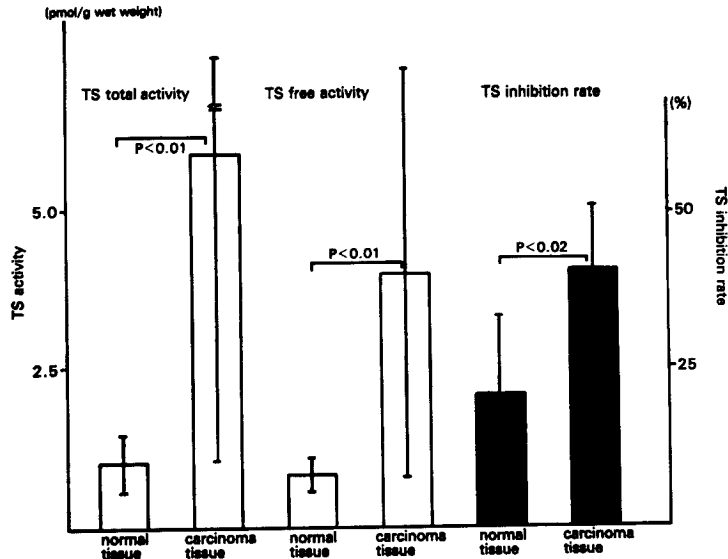


Fig. 4. Thymidylate synthase (TS) activity and TS inhibition rate in normal and carcinoma tissues

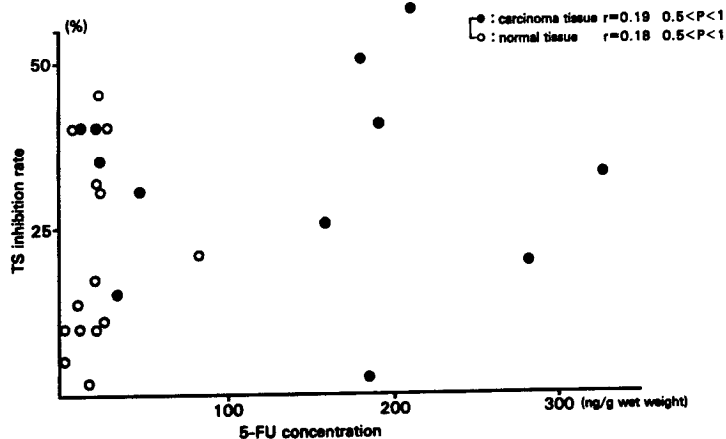


Fig. 5. Correlation between 5-FU level and inhibition rate of TS activity in normal and carcinoma tissues

時の血中濃度, 正常組織内濃度, および腫瘍組織内濃度を示す. tegafur の血中濃度の平均は $7.2 \mu\text{g/ml}$ と, 正常組織の平均 $5.2 \mu\text{g/g wet weight}$ および腫瘍組織の平均 $5.3 \mu\text{g/g wet weight}$ よりやや高い値であったが, 有意差は認めなかった. 一方, 5-FU の腫瘍組織内濃度の平均は $107 \text{ ng/g wet weight}$ と正常組織の $21.2 \text{ ng/g wet weight}$, 血中濃度の 11.4 ng/ml に比較して有意に高く, 強い腫瘍集積性を示した. また, uracil 濃度も 5-FU と同じく腫瘍内濃度の平均は $21.9 \mu\text{g/g wet weight}$ と血中濃度の270倍, 正常組織濃度の3.6倍と高値であった.

2. TS 阻害率

正常組織, 腫瘍組織における TS total, TS free の濃度を測定し, 実験方法で述べた式から TS 阻害率を求めた (Fig. 4). 正常組織内の TS total の平均は $0.98 \text{ pmol/g wet weight}$, TS free は $0.79 \text{ pmol/g wet weight}$ であり, TS 阻害率の平均は21.4%であった. 一方, 腫瘍組織内の TS total は平均 $5.90 \text{ pmol/g wet weight}$, TS free は $4.05 \text{ pmol/g wet weight}$ と正常組織に比較していずれも有意に高く, 平均 TS 阻害率は36.1%と正常組織に比べて有意に高い結果であった.

また個々の症例における組織内 5-FU 濃度と TS 阻害率の関係は、腫瘍組織では 5-FU 濃度、TS 阻害率はともに高い値であったが、腫瘍組織でも正常組織でも有意の相関は認められなかった (Fig. 5)。

考 案

5-FU の masked compound である tegafur は 5-FU に比べ副作用が少なく、長期投与が可能な薬剤として、泌尿器科領域悪性腫瘍にも使用されている抗癌剤である^{7,8)}。tegafur は正体内で肝マイクロゾームの薬物代謝酵素の P-450 により徐々に 5-FU に変換され血中 5-FU 濃度が持続する利点はよく知られている⁹⁾。一方、以前より 5-FU と pyrimidine との同時投与により抗腫瘍効果が高まり、また 5-FU の分解が uracil や thymine により抑制されることが明かにされていた。この点に注目して藤井ら⁴⁾は、tegafur と uracil を同時に経口投与することにより、5-FU の同化系に抑制をかけることなく、5-FU の異化酵素を抑制し、これによって毒性を増すことなく腫瘍内 5-FU 濃度を高め、その至適配合モル比は 1:4であることを明らかにした。こうして開発された UFT の基礎的検討結果は田口ら^{9,10)}によって確認され、その後 UFT の有効性に関する数多くの報告が行われている。尿路上皮腫瘍における UFT の効果に関する報告はいまだ少ないが、UFT の単剤投与により著明な臨床効果が得られた中野ら¹¹⁾や宮部ら¹²⁾の報告は、高齢者の多い尿路上皮腫瘍においてはその安全性からも期待される薬剤である。基礎的検討として朝日ら¹³⁾は膀胱部分切除標本を用いた検討で腫瘍内 5-FU 濃度は、血中の約 6 倍、正常粘膜の約 4 倍と腫瘍組織内濃度を報告し、膀胱腫瘍の抗腫瘍効果は充分期待できるとしている。また三馬ら¹⁴⁾は BBN によるラット膀胱腫瘍発生に対する UFT の効果を検討し、UFT 投与群では有意に膀胱腫瘍の発生が抑制されることを報告している。今回のわれわれの検討でも腫瘍内 5-FU 濃度は 107 ng/g wet weight と正常組織内濃度の 5.1 倍、血中の 9.7 倍と高い腫瘍集積性を認めている。この濃度はほぼ同一条件で検討された、従来よりその有効性が認められている胃癌、乳癌、大腸癌の組織内濃度にほぼ匹敵するものである^{15,16)}。しかし腫瘍組織に取り込まれた 5-FU は生体内でさらに代謝され、制癌効果を発揮するため、腫瘍組織中 5-FU 濃度のみで抗腫瘍効果を予測することは困難である。

現在、フッ化ビリミジン系制癌剤の作用機序としては主に 2 つの機序が推定されている。第 1 には 5-FU

が生体内酵素によりリン酸化されて FdUMP となり、de novo 合成系で dTMP を生成する酵素である TS と強固に結合し、DNA 合成を阻害するというものであり、第 2 には 5-FU が RNA に取り込まれて、RNA 代謝異常を引き起こすというものである。このなかでどちらの機序がより重要であるかについては必ずしも明らかでないが、臨床用量では前者のほうがより重要な役割を演じているのではないかと推察されている¹⁷⁾。われわれはこの DNA 合成阻害をみる目的で TS 阻害率の測定を行った。

その結果、UFT 投与により腫瘍組織内での TS 阻害率は 36.1%、正常組織では 21.4%と有意に腫瘍組織での阻害率が高い結果であった。このことは尿路上皮腫瘍での DNA 合成阻害作用が正常組織に比較して顕著であることを示唆し、抗腫瘍効果が期待される。実験腫瘍を用いて TS 阻害率と抗腫瘍効果との相関を検討した武田ら¹⁸⁾の報告でも UFT および tegafur は両者に相関を認めたとしている。

しかしすべてのフッ化ビリミジン系の薬剤で TS 阻害率と抗腫瘍効果が相関するわけではなく、前述の RNA 代謝障害による抗腫瘍効果の関与や、さらに Sawyer ら¹⁹⁾は 5-FU が DNA に直接取り込まれる機序による DNA 合成阻害の可能性を in vivo の測定系を用いて報告している。

UFT は肝、腎機能障害や骨髄抑制などの副作用が他の制癌剤に比較して少なく、安全性が高い薬剤であることは、高齢者が多い尿路上皮腫瘍の治療に好都合であり、泌尿器科領域悪性腫瘍の治療においても大きな期待が持たれる薬剤である。今後、基礎的検討とともに、有効例の解析など臨床的検討の蓄積が必要であると思われる。

結 語

尿路上皮腫瘍患者 18 例を対象に手術前 1 週間 UFT (600 mg/day) を投与し、摘出標本における腫瘍組織および正常組織内の tegafur, 5-fluorouracil (5-FU) uracil 濃度を測定し、さらに thymidylate synthase (TS) 阻害率を検討した。腫瘍組織と正常組織の間で tegafur 濃度では差を認めなかったが、5-FU と uracil 濃度は腫瘍組織は正常組織に比べて 5.1 倍、3.6 倍の高値を示した。また腫瘍組織における TS 阻害率は平均 36%であったのに対して正常組織では平均 21%と腫瘍組織で有意に高い阻害率であった。しかし 5-FU 濃度と TS 阻害率の相関は腫瘍組織でも正常組織でも認められなかった。UFT は腫瘍組織内 5-FU 濃度が高値を示すだけでなく、TS 阻害率も有意に高

いことより, 尿路上皮腫瘍において有効性が期待される薬剤と思われた。

稿を終えるにあたり, 組織内薬剤濃度の測定に際し, 大鵬薬品工業株式会社開発研究所のご協力を得ましたことを深く感謝申し上げます。なお, 本論文の要旨は第27回日本癌治療学会総会にて報告した。

文 献

- 1) Heidelberger C, Chaudhuri NK, Danenberg RB, et al.: Fluorinated pyrimidines, a new class of tumor-inhibitory compounds. *Nature* **179**:663-666, 1957
- 2) Heidelberger C and Ansfield FJ: Experimental and clinical use of fluorinated pyrimidines in cancer chemotherapy. *Cancer Res* **23**: 1226-1243, 1963
- 3) Seifert P, Baker LH, Reed ML, et al.: Comparison of continuously infused 5-fluorouracil with bolus injection in treatment of patients with colorectal adenocarcinoma. *Cancer* **36**: 123-128, 1975
- 4) Fujii S, Ikenaka K, Fukushima M, et al.: Effect of uracil and its derivatives on anti-tumor activity of 5-fluorouracil and 1(2-Tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil. *Gann* **69**: 763-772, 1978
- 5) 丸中照義, 梅野幸彦, 長町正弘, ほか: 生体試料中の 1-(2-Tetrahydro-2-furanyl)-5-fluorouracil (FT207) 及び 5-fluorouracil (5-FU) の定量法. *医薬品研究* **11**: 307-313, 1980
- 6) Spears CP, Shahinian AH, Moran RG, et al.: In vivo kinetics of thymidylate synthase inhibition in 5-fluorouracil-sensitive and -resistant murine colon adenocarcinomas. *Cancer Res* **42**: 450-456, 1982
- 7) 岡田謙一郎, 池田達夫, 小松洋輔, ほか: Ni-(2'-Tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (Futraful) による泌尿器科領域悪性腫瘍の治療について. *癌と化療* **5**: 605-613, 1978
- 8) 伊藤 登, 藤井昭男, 彦坂幸治, ほか: 膀胱腫瘍に対する N₁-(2'-Tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (Futraful) 投与の臨床経験. *泌尿紀要* **26**: 1169-1175, 1980
- 9) 田口鐵男, 中野陽典, 軸屋紘蔵, ほか: Uracil と FT-207 の併用経口投与 (UFT 療法) による抗腫瘍効果の増強について (その1). *癌と化療* **5**: 1161-1165, 1978
- 10) 田口鐵男, 中野陽典, 藤井節郎, ほか: Uracil と FT-207 の同時経口投与による癌組織内 5-FU レベルの特異的上昇について (その2). *癌と化療* **5**: 1167-1172, 1978
- 11) 中野悦次, 岩崎 明, 瀬口利信, ほか: UFT 経口投与により傍大動脈リンパ節転移の完全寛解が認められた膀胱腫瘍の1例. *癌と化療* **16**: 415-417, 1989
- 12) 宮部憲朗, 平川和志, 前野七門, ほか: UFT 経口投与にて肺転移巣の著明な縮小が認められた膀胱腫瘍の1例. *西日泌尿* **49**: 1199-1201, 1987
- 13) 朝日俊彦, 松村陽右, 尾崎雄治郎, ほか: 膀胱腫瘍に対する UFT の臨床効果. *癌と化療* **9**: 503-507, 1982
- 14) 三馬省二, 田畑尚一, 中辻史好, ほか: BBN によるラット膀胱腫瘍発生に対する UFT の効果. *癌と化療* **12**: 1661-1668, 1985
- 15) 坂本 忍, 工藤秀機, 桑 克彦, ほか: ヒト大腸癌の DNA 合成系酵素に与える UFT 術前補助化学療法の影響. *日癌治* **24**: 94-98, 1989
- 16) 鈴木光明, 関口 薫, 玉田太朗, ほか: UFT, tegafur 投与下での腫瘍組織中 thymidylate synthase 阻害率および 5-fluorouracil 濃度. *日癌治* **24**: 1399-1404, 1989
- 17) Evans RM, Laskin JD and Hakala MT: Assessment of growth-limiting events caused by 5-fluorouracil in mouse cells and in human cells. *Cancer Res* **40**: 4113-4122, 1980
- 18) 武田節夫, 内田淳二, 山田雄次, ほか: フッ化ビリミジン系抗癌剤における thymidylate synthase 阻害と抗腫瘍効果との関連性について. *癌と化療* **15**: 2125-2130, 1988
- 19) Sawyer RC, Stolli RL, Martin DS, et al.: Incorporation of 5-fluorouracil into murine bone marrow DNA in vitro. *Cancer Res* **44**: 1847-1851, 1984

(Received on April 23, 1990)
(Accepted on July 5, 1990)