

膀胱癌に対するメソトレキサートの 肛門粘膜下注入療法に関する検討

和歌山労災病院泌尿器科 (部長: 藤永卓治)

吉田 利彦, 小川 隆敏, 藤永 卓治

紀南総合病院泌尿器科 (部長: 線崎敦哉)

曲 人 保

EXPERIMENTAL AND CLINICAL STUDIES ON ANAL SUBMUCOSAL INJECTION OF METHOTREXATE FOR BLADDER CANCER

Toshihiko Yoshida, Takatoshi Ogawa and Takuji Fujinaga

From the Department of Urology, Wakayama Rosai Hospital

Inbou Kyoku

From the Department of Urology, Kinan General Hospital

The experimental and clinical studies were performed to investigate the efficacy of the anal submucosal injection (ASI) of methotrexate (MTX) for bladder cancer.

In the experimental study, MTX was administered to male Wister rats each weighing from 200 to 250 gm in a dosage of 2 mg/kg body weight through two different routes, one of which was intravenous injection (IV group) and the other of which was anal submucosal injection (ASI group). The concentrations of MTX in serum and bladder tissue after injection were estimated in both groups. Serum MTX levels in ASI group were significantly higher than those in the IV group from 30 minutes through 120 minutes after injection, while the IV group was higher than the ASI group at 5 minutes after injection. Tissue MTX levels in ASI group were significantly higher than those in the IV group from 60 minutes through 120 minutes after injection. However, tissue MTX levels in IV group were significantly higher than those in ASI group from 5 minutes through 15 minutes after injection.

We started clinically to use ASI for bladder cancer as a preliminary random trial in November, 1988. Between November, 1988 and September, 1989 ASI was performed in 9 patients with various bladder cancer. The dose of MTX was 50 mg every week for 5 consecutive doses. The course was repeated at 3-week intervals. Only 3 patients were evaluable for the clinical efficacy of ASI. Two patients with CIS showed complete regression and the other patient with superficial low grade tumor had no changes. Five patients who had at least one course of treatment were evaluated for their toxicities. It was noted that all patients encountered stomatitis which was regarded as one of the systemic side effects. Furthermore serum MTX concentrations were measured 30 minutes, 1, 3, 6 and 24 hours after administration in both the ASI group and IV group. In the IV group the same dose of MTX was administered intravenously by one-hour drip infusion. Serum MTX levels in the ASI group were significantly higher than those in the IV group from 1 hour through 6 hours after injection, which was consistent with our experimental results.

Further study should be needed to assess the efficacy of this treatment for bladder cancer.

(Acta Urol. Jpn. 37: 857-861, 1991)

Key words: Bladder cancer, Methotrexate, Anal submucosal injection

緒 言

1988年 Shafik ら¹⁾は、膀胱癌に対してメソトレキ

セート (以下 MTX と略す) の肛門粘膜下注入 anal submucosal injection (以下 ASI と略す) をおこない、きわめて良好な成績を報告している。著者らは、

この ASI の有用性を追試するために、以下に示す実験のなかに臨床的検討をおこなったので、その結果を記載する。

I. 実験的検討

方法

実験動物は、体重 200~250 g の雄ウイスターラットを用いた。MTX の ASI あるいは静脈注射をおこない、それぞれの血中および膀胱組織内の MTX 濃度の経時変化を比較検討した。

MTX は生理食塩水で溶解 (1 mg/1 ml) し、投与量は 2 mg/kg BW とした。ASI は、小児用の鼻鏡でラットの肛門を開大し、26 G 針を用いて注入し、静注は尾静脈よりおこなった。注入後、5、15、30、60、90 および 120 分後にそれぞれ採血するとともに、屠殺し膀胱を摘出した。血液は血清分離し、膀胱組織はその中に含まれる尿成分を念入りに濾紙で吸い取った上で、それぞれ凍結保存した。

MTX 濃度の測定は、蛍光偏光イムノアッセイによりおこない、試薬は TDX メソトレキセート (ダイナボット) を用い、測定機器は TDX アナライザー (Abbott) を使用した。

各群のラット数は 5~9 匹であり、結果は mean $\pm$ standard deviation (mean $\pm$ SD) で表示し、Student's t test にて有意差を検定した。

結 果

1. 血中 MTX 濃度 (Table 1, Fig. 1)

静注群の血中 MTX 濃度は、5 分後では ASI 群に比べて有意に高値を示したが、その後は比較的急速な低下を示した。これに対し、ASI 群では 15 分後にピークがみられ、30 分以降では静注群に比較して有意に高い血中濃度が維持されており、MTX の血中への移行の徐放性が認められた。

2. 膀胱組織内 MTX 濃度 (Table 2, Fig. 2)

Table 1. Blood MTX levels after injection in rats (μ M)

	5 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
mean	11.13***	4.06	1.72	0.47	0.25	0.17
SD	2.61	1.00	0.31	0.07	0.04	0.03
n	8	6	6	6	7	9
mean	4.56	5.00	2.71*	1.61**	0.91***	0.41***
SD	0.56	1.27	0.86	0.17	0.14	0.13
n	8	6	6	6	7	7

IV: intravenous injection ASI: anal submucosal injection

*: $P < 0.05$, **: $P < 0.01$, ***: $P < 0.001$

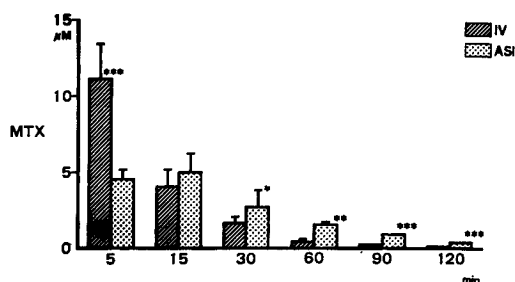


Fig. 1. Blood MTX levels after injection in rats

Table 2. Tissue MTX levels after injection in rats (μ mol/mg)

	5 min	15 min	30 min	60 min	90 min	120 min
mean	18.03***	16.68***	12.00	3.32	2.44	1.27
SD	7.38	2.34	2.85	1.31	1.03	0.63
n	7	6	5	6	7	8
mean	2.74	7.20	11.07	11.39**	10.70**	9.25**
SD	0.69	1.59	5.00	5.56	6.82	5.85
n	8	5	6	5	6	6

IV: intravenous injection ASI: anal submucosal injection

** : $P < 0.01$, *** : $P < 0.001$

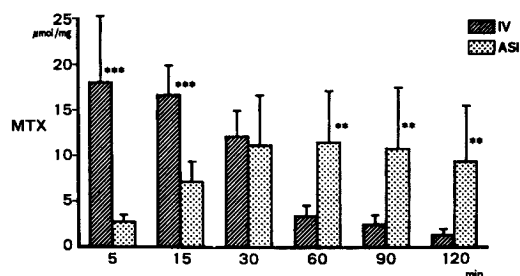


Fig. 2. Tissue MTX levels after injection in rats

静注群では、5 分後にピークを示した後、漸減し、30 分を過ぎると組織内濃度は急激な低下を示した。これに対し、ASI 群では 30 分後まで次第に上昇し、それ以降 120 分後まで 10 μ mol/mg 程度の高濃度が維持されており、60 分以降においては静注群に比較していずれも有意に高い組織内濃度が示された。すなわち、10 μ mol/mg 程度をひとつの基準濃度とした場合、静注群では 30 分後までしかこの濃度が維持されないのに対し、ASI 群では 30 分以降 120 分後までこの濃度がほぼ維持されており、ASI 群は静注群の 3 倍以上の長時間にわたり比較的高濃度が維持されることが示され

た。

以上の実験的検討に基づいて、少数例ではあるが臨床的検討をおこなった。

II. 臨床的検討

対象および方法

1988年10月から1989年9月までの1年間に、random trialとして、計9例（男8例、女1例、年齢61～80歳、平均70歳）の種々の膀胱癌症例に対しMTXの肛門粘膜下注入療法を施行した。

ASIの手技は、Shafikらの方法¹⁾にほぼ準じておこなった。患者を側臥位あるいは截石位とし、処置用肛門鏡を挿入し、肛門内を消毒した後、生理食塩水10mlで溶解したMTX 50mgを吸引した注射器にカテラン針を着け、pectinate line上方のanal canal前壁の粘膜下に注入した。この部は無痛であるため、麻酔の必要はない。正しく粘膜下に注入された場合、粘膜の広範な膨隆が認められた。

投与回数は、MTX 50mgのASIを週1回、5週連続しておこない1コースとし、3週間の休業期間の後、次のコースを開始した。コースの回数は症例によって適宜変更した。

また、各施行症例においてASI後、血中のMTX濃度を経時的に測定し、ASIをおこなわない他症例におけるMTX 50mg点滴静注後の経時変化と比較検討した。

結 果

1. 症例

現存する膀胱腫瘍に対する本治療単独の治療効果を評価できた症例は3例に過ぎなかったため、その臨床経過を簡単に記載する。

症例1（69歳、男性）：排尿時痛を主訴として1988年8月当科を初診、膀胱鏡検査にて後壁に比較的広範な粘膜の発赤病変がみられ、生検でTCC, G2, CISと診断された。TUECを施行した後、BCG 80mgの膀胱内注入を毎週、計6回おこなったが、尿細胞診は陽性（class IV）で、膀胱鏡検査でやはり発赤病変が存在し、生検でもCISが確認された。1988年11月より、MTX 50mgのASIを開始した。1コース終了後、尿細胞診は陰性化し（class I, II）、粘膜の発赤病変も縮小した。その後、さらに4コース施行したが、発赤病変は完全に消失し、生検ではdysplasiaを示すのみで、18カ月間再発はまったく認められなかった。

症例2（67歳、女性）：1974年子宮癌のため子宮全

Table 3. Side effects

Subjective			
1. anal pain	5/5 (mild, only one day)		
2. stomatitis	5/5 (mild~moderate)		
3. fever	2/5 (38~39°C)		
4. anorexia	1/5 (mild)		
5. malaise	1/5 (mild)		
Objective		before	during
WBC	(/mm ³)	6100±678	4580±2028 (min. 2000)
Platelet	(×10 ⁴ /mm ³)	23.4±5.4	23.8±10.7 (min. 12)
RBC	(×10 ⁴ /mm ³)	453±51	396±68 (min. 280)

摘および放射線療法を受け、その後、神経因性膀胱と放射線性膀胱炎の診断にて当科で長期にfollow中、表在性の多発性乳頭状腫瘍（TCC, G2）を併発した症例で、1988年5月TUR-BTを施行、術後BCG 80mgの膀胱内注入を計6回おこなった。しばらく明らかな再発は認められなかったが、放射線性膀胱炎によると考えられる膀胱出血のため、1989年1月再入院した。膀胱鏡検査では、広範な粘膜の発赤、浮腫および静脈性出血がみられ、また、一部には粘膜のビロード状変化も散見された。random biopsyを施行したところ、TCC, G2, CISの病理結果が得られた。1989年2月より1989年9月までの間に、MTX 50mgのASIを計4コース施行した結果、腫瘍病変は消失し尿細胞診も陰性化した。

症例3（76歳、男性）：1983年膀胱腫瘍の診断にて他院でTUR-BTを受けたが、その後受診せず放置していた。1988年9月血尿を主訴として当科を受診、膀胱鏡検査で多発性乳頭状腫瘍（TCC, G1, Ta）の再発が認められ、入院した。MTX 50mgのASIを2コース施行したが、膀胱鏡検査では変化はみられなかった。

2. 副作用

1コース以上施行できた5症例の副作用をTable 3に示す。自覚的には、局所的副作用である肛門痛が全例にみられたが、いずれもきわめて軽度であり、また注入した当日のみであった。全身的副作用のひとつとして考えられる口内炎が全例にみられたことが注目され、これはASIによってもMTXの血中濃度はかなり上昇することを示唆するものと考えられた。

他覚的には、末梢白血球および赤血球はそれぞれ減少を示したが、重篤なものはみられなかった。血液生化学検査では著変はみられなかった。なお、肛門粘膜には肉眼的に変化はまったくみられなかった。

3. 血中MTX濃度

Table 4. Blood MTX levels after injection in patients (μM)

		0 min (IV) or 10 min (ASI)	30 min	1 hr	3 hr	6 hr	24 hr
IV	mean	6.68**	3.87	2.56	1.27	0.545	0.068
	SD	1.54	1.13	0.53	0.37	0.167	0.024
	n	5	8	7	8	4	5
ASI	mean	3.75	4.42	3.92***	2.00**	0.993*	0.062
	SD	1.32	0.70	0.64	0.60	0.303	0.025
	n	8	11	11	11	4	5

IV: intravenous injection ASI: anal submucosal injection

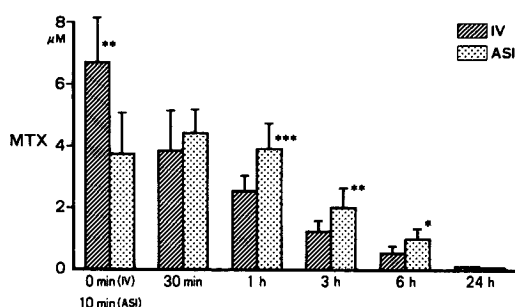
* $P<0.05$, ** $P<0.01$, *** $P<0.001$ 

Fig. 3. Blood MTX levels after injection in patients

ASI 群および点滴静注群における投与後の血中 MTX 濃度の経時的変化は、Table 4 および Fig. 3 に示した。ASI 群は注入10分後より採血を始め、他方、点滴静注群は 500 ml で溶解した MTX 50 mg を約 1 時間で点滴静注し、点滴終了直後より採血を開始した。したがって、ASI 群の10分後の血中 MTX 濃度は、便宜上、点滴静注群の直後の濃度と比較することにした。各群の症例数は 4~11 例であり、結果は mean $\pm$ standard deviation (mean $\pm$ SD) で表示し、Student's t test にて有意差を検定した。

血中 MTX 濃度のピークは、点滴静注群では直後の 6.68 μM であり、ASI 群では30分後の 4.42 μM であった。すなわち、ASI 群でも点滴静注群の約 2/3 のピーク濃度が得られていた。また、1 時間後から 6 時間後の間では、ASI 群は点滴静注群に比較して有意に高い血中 MTX 濃度が維持されていた。以上の結果より、ASI 後の血中 MTX 濃度は予想以上に高く、かつ静注に比較して長時間高濃度が維持されることが確認され、前述の動物実験の結果と一致するものと考えられた。

考 察

今日、膀胱癌治療における化学療法果たす役割は非常に大きく、薬剤の選択および組合せ、さらには投与経路などについて、広範な検討がなされてきている。膀胱癌に感受性を示す薬剤は比較的多いが、現在、一般的に広くおこなわれているのは多剤併用療法であり、その薬剤の組合せについては多種多様な報告がみられる。他方、薬剤の投与経路については、静脈内注入が大部分を占め、その他、動脈内注入、膀胱内注入などが一部みられるにすぎない。

1984年 Shafik²⁾は、新しい膀胱撮影の方法として造影剤の肛門粘膜下注入を報告し、その翌年には、放射線増感剤である misonidazole をラットの肛門粘膜下に注入する実験をおこない、高い膀胱組織内濃度が得られたことを報告しており³⁾、その考察の中で、この方法が抗癌剤の新しい投与方法としても適用できる可能性を示唆している。そして、その臨床応用も1988年 Shafik ら¹⁾により初めてなされた。彼らは、使用する抗癌剤を MTX と決め、まずマウスの肛門粘膜下に注入する実験をおこない、肛門直腸に組織障害のないことを確認した上で、臨床では、局所進行膀胱癌18例に対して本法を施行し、complete regression が10例、partial regression が8例という報告をおこなっている。これら18例中11例が bilharziasis に起因した扁平上皮癌であるという特殊性を考慮しても、この臨床成績は素晴らしいものであると思われる。

著者らは、この ASI の有用性を追試するために、まずラットを用いて実験的検討をおこなった。すなわち、MTX の注入経路として肛門粘膜下を用いた場合、従来の静脈内投与に比較して、血中あるいは膀胱組織内の MTX 濃度がどのように変化するか実験的に比較検討した。ここで、使用する抗癌剤として MTX を選択した理由は、ひとつには Shafik らの追試をおこなうためであり、またひとつには、MTX は膀胱癌に感受性があり、かつ局所注入による組織障害のない薬剤の代表と考えられたためである。今回の実験の結果、血中 MTX 濃度の経時的測定により、ASI では MTX の血中への移行が緩徐である、いわゆる徐放性を示す結果が得られ、他方、膀胱組織内 MTX 濃度の測定により、静注群では濃度のピークは ASI 群より高いが、その低下は急速であるのに対して、ASI 群では30分以降120分後まで比較的高い濃度が維持されることが示された。

Shafik ら³⁾は、misonidazole をラットに投与する実験で、ASI では注入 15 分後の膀胱組織内濃度は血

清レベルの8倍に達したのに対し、経口投与では血清レベルの1/4倍にしかすぎなかったと述べ、ASIにより高い膀胱組織内濃度が得られることを強調している。同時に、彼らは、その理論的根拠として詳細な解剖学的検討をおこない、ASIにより注入された薬剤は、haemorrhoido-genital veinを通して、男性ではvesicoprostatic plexus、女性ではvesicovaginal plexusに流入した後、vesical submucosal plexusに到達し、膀胱組織内に高濃度に集積すると説明している⁴⁾。

一般的に、MTXによる抗腫瘍効果は、濃度依存性でもあるが、主として時間依存性であるとされている。Shafikらは、ASIでは膀胱組織内のMTX濃度が高くなることを強調しており、ASIにより濃度依存性であるMTXの抗腫瘍効果が増強されると考えている。これに対し、今回の著者らの実験結果では、膀胱組織内MTX濃度のピークは、ASI群より静注群の方が高値となり、Shafikらとは異なる結果が示された。しかしながら、静注群のピーク後の濃度低下が急速であるのに対して、ASI群では30分以降120分後まで比較的高い濃度が維持されることが観察され、ASIにより時間依存性であるMTXの抗腫瘍効果が高められることが示唆された。ASIによる抗腫瘍効果の増強を説明するには、使用する薬剤がMTXの場合、今回の実験結果の方が説得力をもつかもしれない。

今回の臨床的検討では、評価可能症例がすくないため、ASIの治療効果についてはまだ結論は出せないが、副作用に関してはShafikらの報告とはいささか異なった結果が得られた。Shafikら¹⁾は、ASIでは静注に比べてMTXの全身的副作用はきわめてすくないと報告している。彼らはまた、臨床例において、ASIあるいは静注後の血中MTX濃度を測定し、注入4時間後および24時間後のいずれにおいても、ASI群の方が有意に低い血中濃度を示したと述べている。これに対し、われわれの症例では、全身的副作用が多数の症例でみられた。また、臨床例における血中MTX濃度の検討では、Shafikらの結果とは異なり、注入1時間以降6時間後までASI群の方が静注群に比較して高い血中濃度が維持されており、ラットを用いた実験的検討でも同様な結果が示された。

以上のように、今回のわれわれの検討結果は、Shafikらの報告とはいささか異なる傾向を示すものとなった。この点については、現在のところ解釈のむづかしいところであるが、いずれにせよ本法はひとつの新しい抗癌剤の投与方法であり、その臨床効果の可能性を

求めて、更なる検討が必要と考えられた。

結 語

膀胱癌に対するメソトレキセート(MTX)の肛門粘膜下注入療法(ASI)に関して、実験的ならびに臨床的検討をおこない、以下の結果を得た。

1)ラットを用いた実験的検討において、血中MTX濃度の経時的測定により、ASIではMTXの血中への移行が緩徐である、いわゆる徐放性を示す結果が得られた。

2)ラット膀胱組織内MTX濃度の測定により、静注群では濃度のピークはASI群より高いが、その低下が急速であるのに対して、ASI群では30分以降120分後まで比較的高い濃度を維持することが示された。

3)臨床的には、9例の膀胱癌患者に施行し3例が評価可能であった。この内CIS症例2例にCRが得られ、他の1例はNCと判定された。

4)口内炎を主とした全身的副作用が多数の症例でみられ、血中MTX濃度の検討でもこれを裏付ける結果が示された。

稿を終えるにあたり、御校閲を頂いた恩師和歌山県立医科大学大川順正教授に深謝いたします。また、本研究にあたり、御協力頂いた日本レダリー株式会社に感謝いたします。

文 献

- 1) Shafik A, Haddad S, Elwan F, et al.: Anal submucosal injection: a new route for drug administration in pelvic malignancies. II. Methotrexate anal injection in the treatment of advanced bladder cancer. Preliminary study. *J Urol* **140**: 501-505, 1988
- 2) Shafik A: Anal cystography: new technique of cystography. *Urology* **23**: 313-316, 1984
- 3) Shafik A, El-Merzabani MM, El-Aaser AA, et al.: Anal submucosal injection: a new route for drug administration in pelvic malignancies. Part I. Experimental study of misonidazole distribution in serum and tissues, with special reference to urinary bladder. Preliminary report. *Invest Radiol* **21**: 278-281, 1986
- 4) Shafik A and Mohi-el-Din M: A new concept of the anatomy of the anal sphincter mechanism and the physiology of defaecation. XX-IV haemorrhoidal venous plexuses: anatomy and role in haemorrhoids. *Colo-proctology* **7**: 291-296, 1985

(Received on September 17, 1990)
(Accepted on November 9, 1990)