

抗癌剤の経膀胱的吸収に関する研究

—膀胱内注入療法の基礎—

第1報 5-FU, MMC, BLM, ADM の経膀胱的吸収

山口大学医学部泌尿器科学教室（主任：酒徳治三郎教授）

永 田 一 夫

STUDIES ON THE ABSORPTION OF ANTICANCEROUS
AGENTS THROUGH THE URINARY BLADDER
—BASIS OF THE INSTILLATION THERAPY—1. ABSORPTION OF 5-FU, MMC, BLM AND ADM THROUGH
THE URINARY BLADDER

Kazuo NAGATA

*From the Department of Urology, Yamaguchi University School of Medicine**(Chairman: Prof. J. Sakatoku, M. D.)*

A study was made regarding the absorption of anticancerous agents—5 fluorouracil, mitomycin C, bleomycin and adriamycin—through the bladder.

The agent was instilled in the bladder of rats in which ureterostomy was performed in advance, over three hours period. The blood concentrations of all drugs three hours after the instillation were trace, but the urinary recoveries of 5 fluorouracil and adriamycin were 0.15% and 0.46% respectively.

Further examinations were made on 5 fluorouracil and adriamycin. The drug was instilled in the bladder of rats with urinary and biliary diversion. The urine and bile were collected every 3 hours for the next 12 hours. The recovery rate of 5 fluorouracil into the urine was 0.08% and the rate of it into the bile was 0. The rates of adriamycin into the urine and bile were 1.92% and 4.14%.

Thus, it was proved that 5 fluorouracil and adriamycin were absorbed from the bladder and distributed to the whole body.

緒 言

膀胱からの薬剤等の吸収に関しては、Segalas (1824) の報告が最初といわれ¹⁾、以後種々の実験が行なわれ検討されてきた。この間、膀胱の吸収能に対して否定的な意見もみられた²⁾が、現在では正常膀胱粘膜においても被吸収物質によっては吸収は行なわれうとする考えが一般的である。しかしながら、その機序については未だ不明³⁻⁶⁾な点が多く、基礎的に充分説明できるとは言いがたい。

一方、こうした膀胱の薬剤透過性があらためて臨床的に関心を集めるようになったのは膀胱腫瘍に対する

抗癌剤の膀胱内注入療法が試みられはじめてからであろう。Semple (1948)⁶⁾ は podophyllin を、Bateman (1955)⁷⁾ は thiotepa を初めて膀胱内に注入した。さらに、Jones and Swinney (1961)⁸⁾ は thiotepa の膀胱内注入に伴う白血球減少などの全身的副作用について報告。以来さまざまな抗癌剤の注入療法が行なわれるとともに、膀胱からの吸収についても検討されてきた。しかしながら、吸収の機序といった基礎的な事柄さえ十分に解明されていない今日、これら抗癌剤の経膀胱的吸収に関する研究はその数も少なく、かつ充分とは言いがたい。このため、現在広く行なわれている抗癌剤の膀胱内注入療法における薬剤の選択、使用

量, 期間, 副作用なども臨床での試行錯誤が先行しているのが現状である。

こうしたことから, 著者はより効果的な膀胱癌化学療法を行なうための基礎的研究として, ラットをモデルとし各種抗癌剤の膀胱よりの吸収について検討を行なった。

実験材料および実験方法

I. 基礎実験

1. 使用薬剤

5-fluorouracil (以下 5-FU と略す): 分子量約 130, mitomycin C (MMC): 分子量約 334, bleomycin (BLM): 分子量約 1,400, adriamycin (ADM): 分子量約 580, 以上 4 薬剤を使用した。

2. 実験動物

体重 350~400 g の Wistar 系雄性ラットをもちいた。ネンブータル麻酔下に腹部正中切開を行ない, 経腹腔的に 1 側尿管を露出した。実体顕微鏡下に尿管の 1 部に横切開を加え, これより外径 0.024 インチのポリエチレンチューブ (Clay Adams 社製) を挿入し尿管瘻とした。尿の流出を確認した後, 反対側の腎摘出を施行した。胆汁採取群については, 胆管に同ポリエチレンチューブを挿入し胆管瘻とした。

つぎに蒸留水で溶解し, それぞれ 5-FU 1000 μ g, MMC 300 μ g, BLM 500 μ g, ADM 300 μ g を含む各溶液 0.3 ml を皮内針にて膀胱内に注入した。これが排出されるのを防ぐため陰茎を結紮した。

3. 実験方法

実験 (1): 尿路変更をしたラットの膀胱内腔にそれぞれ上記の量の 5-FU, MMC, BLM, ADM を注入した。3 時間後に脱血死させ, その間の尿と血液を採取し濃度測定を行なった。

実験 (2): 尿路変更および胆管瘻を造設したラットの膀胱内腔に 5-FU, ADM を同様に注入した。1 時間後, 注入薬剤との接触を断つため膀胱内溶液を含めて膀胱を摘出し, 以後, 経時的に尿については 3 時間ごとに, 胆汁については 2 時間ごとに 12 時間まで採取し, 濃度測定を行なった。

II. 抗癌剤定量法

1. 5-FU, MMC, BLM

薄層ディスク平板法による bioassay 法にて測定した。

1) 検定菌および培地

5-FU 検定菌: *Staphylococcus aureus* 209P
培地組成: Mueller-Hinton 培地 19 g
Bacto-Agar 9 g

蒸留水 1 l
(pH 7.4)

MMC 検定菌: *E. coli* B
培地組成: ペプトン 5 g
肉エキス 3 g
寒天 15 g
蒸留水 1 l
(pH 6.8)

BLM 検定菌: *B. subtilis*
培地組成: Mueller-Hinton 培地 19 g
Bacto-Agar 9 g
蒸留水 1 l
(pH 7.4)

2) 測定方法

これらの検定菌をもちいた bioassay 法については藤田ら⁹⁾の方法を基本とした。まず上記のおおのの培地を 2 気圧, 15 分間高压殺菌した後 55°C まで冷却し, あらかじめ温めておいた中試験管に 5 ml ずつ分注した。これに検定菌液約 0.1 ml を加えよく混ぜ, 滅菌ペトリ皿に流し込み薄層平板を作った。つぎに試料に浸した後, 乾燥させた薄層濾紙ディスク (直径 8 mm) 3~5 枚を固定した培地の上に置き, 37°C で 18~20 時間培養を行なった。培養後, 阻止円の直径を計測した。

3) 標準曲線

5-FU: 16, 8, 4, 2, 1, 0.5, 0.25, 0.1, 0.05 0.025*
 μ g/ml

MMC: 0.32, 0.16, 0.08, 0.04, 0.02, 0.01* μ g/ml

BLM: 64, 32, 16, 8, 4, 2, 1, 0.5* μ g/ml

上記の標準液を調整した。片対数グラフの横軸に濃度 (μ g/ml), 縦軸におおのの培養阻止円の直径 (mm) をとり標準曲線とした。

2. ADM

Rosso ら¹⁰⁾の方法に従って蛍光分析法にて定量を行なった。すなわち, 液状試料 (血清, 尿, 胆汁) 0.1~1.0 ml に蒸留水を加えて 2.0 ml とした後, NaCl 800 mg, n-BuOH 4 ml を添加し, 室温にて 10 分間振盪抽出を行なった。3,500 rpm にて 15 分間遠心分離後, 上清の液量を読み, これを取り出して波長 Ex 470 nm, Em 585 nm で蛍光強度を測定した。標準液は 10, 1, 0.1 μ g/ml をそれぞれ調整し, 3 者の蛍光強度に直線性があるのを確認した。background の測定は ADM 投与前の血清, 尿または胆汁を用いて行った。なお測定には 204 型日立分光蛍光光度計を用いた。

* 測定可能な最底濃度

成績

I. 基礎実験

実験 (1)：尿路変更をしたラット膀胱内に 5-FU, MMC, BLM, ADM を 3 時間保持させた時の血中濃度, 尿中回収率を Table 1~4 に示した. いずれも血中濃度は 0 ないし trace 程度であるが 5-FU, ADM は尿中にそれぞれ 5.4~5.5 $\mu\text{g/ml}$ (平均回収率: 0.15

%) (Table 1), 3.5~7.6 $\mu\text{g/ml}$ (0.46%) が回収された (Table 2). MMC, BLM は尿中にほとんど証明されなかった (Table 3, 4).

実験 (2)：尿路変更および胆管瘻を作成したラット膀胱内に 5-FU, ADM を 1 時間保持させた時の尿中, 胆汁中回収率を Fig. 1~3 に示した. 5-FU は膀胱内注入後 6 時間以内に尿中に 0.08% 回収された. 6 時間目以後は尿中には証明されなかった. 胆汁中にはまっ

Table 1. Absorption of 5-FU* from the rat† urinary bladder.

Rat No.	Serum levels 3 hrs. later	Urinary excretion and recovery rates 0 — 3 hrs.	
1	0 $\mu\text{g/ml}$	5.5 $\mu\text{g/ml}$	0.2 %
2	0.06	30.0	0.9
3	0	5.4	0.1

* 1,000 μg per 0.3 ml saline, instillation for 3 hours.

† Unilateral nephrectomized and contralateral cutaneous ureterostomized condition.

Table 2. Absorption of MMC* from the rat urinary bladder.

Rat No.	Serum levels 3 hrs. later	Urinary excretion and recovery 0 — 3 hrs.	
1	0 $\mu\text{g/ml}$	0.1 $\mu\text{g/ml}$	0.01 %
2	0	0	0
3	0	0	0

* 200 μg per 0.3 ml saline, instillation for 3 hours.

Table 3. Absorption of BLM* from the rat urinary bladder.

No. of rats	Serum levels 3 hrs. later	Urinary excretion and recovery 0 — 3 hrs.	
3	neg.	neg.	0 %

* 500 μg per 0.3 ml saline, instillation for 3 hours.

Table 4. Absorption of ADM* from the rat urinary bladder.

Rat No.	Serum levels 3 hrs. later	Urinary excretion and recovery 0 — 3 hrs.	
1	0.09 $\mu\text{g/ml}$	3.5 $\mu\text{g/ml}$	0.35 %
2	0	7.6	0.76
3	0	4.2	0.28

* 300 μg per 0.3 ml saline, instillation for 3 hours.

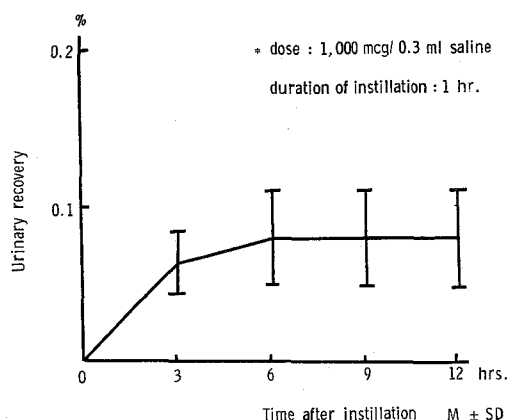


Fig. 1. Urinary recovery of the instilled 5-FU* in the rats (n=4).

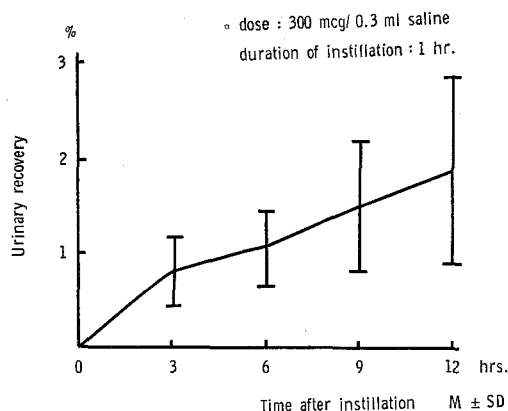


Fig. 2. Urinary recovery of the instilled ADM* in the rats (n=4).

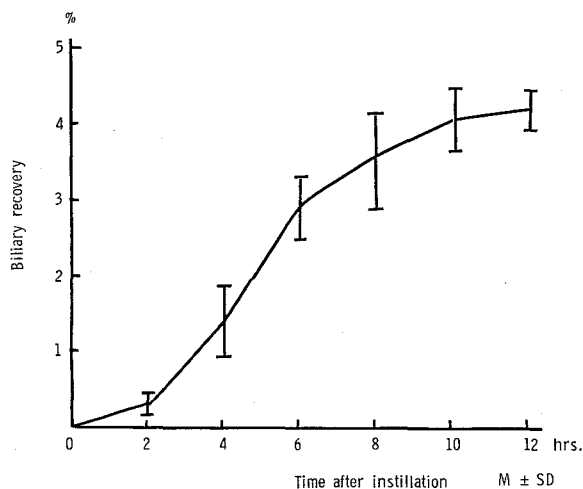


Fig. 3. Biliary recovery of the instilled ADM in the rats (n=4).

たく回収されなかった (Fig. 1). ADM は膀胱内注入後12時間以内に尿中に1.92%回収され (Fig. 2), 胆汁中に4.14%回収された (Fig. 3). 時間あたりの胆汁への移行は注入後2~4時間がもっとも多く, 平均 2.12 $\mu\text{g/hr}$ であった. 12時間後の血中濃度はいずれも測定限界以下であった.

考 察

膀胱壁の透過性 (経膀胱的吸収) に関しては, 今日広く認められているところである. その機序について, Fellow³⁾ は水と Na は別々のルートを通して移すとし, 水は transcellular に, Na は intercellular に移行すると述べている. また, Borzelleca ら¹¹⁾ ははっきりと, 薬剤の移行はおもにイオン化しない形での passive diffusion によると結論している.

しかしながら, こういったことだけで膀胱壁の透過

性を説明することは不可能である. なぜなら膀胱壁の透過性を左右する膀胱側, および被吸収物質側はともに複雑な多くの要因をもつ. たとえば, 膀胱側の要因として, 組織学的構造, 粘膜の特異性, 膀胱血流などがあげられる. このうち, 組織学的構造に関して, Fellow¹²⁾, Turnbull⁶⁾ は膀胱壁表層における intercellular tight junction が透過性に大きな影響を与えているとしている. すなわち, 炎症, 未分化型悪性腫瘍の存在で intercellular tight junction が破壊されると透過性は亢進すると述べている.

一方, 被吸収物質側の要因として, 分子量, 濃度, pH, 滲透圧, 各薬剤の薬理学的特性などが問題となる. このうち, 分子量について, Maluf¹³⁾ は分子量 300以下, 川井・小川¹⁴⁾ は200以下の物質は経膀胱的に吸収されるとしている. 透過性が passive transport によるとすれば, 一般に分子量の小さい物質ほど吸収

されやすいといえるかも知れない。しかし、ヒト膀胱では *p*-aminohippurate は吸収されるがそれより分子量の小さいカルシウムやリンは吸収されないといったこと¹⁵⁾や、はるかに分子量の大きい neocarcinostatin (分子量約 11,000) が吸収されるといったことも報告されており¹⁶⁾、被吸収物質の分子量に関すること1つ取り上げても、まだ定説はないといえる。その他の要因について、足立¹⁷⁾は犬をモデルにした、tetracycline, colimycin, streptomycin の経膀胱的吸収に関する実験結果から、注入濃度が高いほど移行は増大するが、pH, 滲透圧などその他の因子による影響はあきらかでないとし、反対に、Borzelleca¹¹⁾や Cole ら¹⁸⁾は solution の pH につよく影響されると述べている。こうした複雑な要因を内含し、かつ、膀胱側および被吸収物質側の両者の相対関係で透過性が決定されるため、基礎的な機序の説明や一定の法則の確立がきわめて困難とならざるをえない。

他方、透過性が臨床的に注目されてきたのは膀胱癌に対する抗癌剤の膀胱内注入療法の効果が唱えられはじめてからであろう。Jones & Swinney⁸⁾は16例の膀胱腫瘍患者に thiotepa を注入したところ、3時間で約 1/3 が吸収され、うち2例に白血球減少が認められたと述べている。Lunglmayer ら¹⁹⁾は thiotepa の膀胱内注入により重篤な骨髄抑制をきたした例を報告。Milroy ら²⁰⁾は thiotepa 膀胱内注入後30分までに8.8%が吸収され、膀胱静脈、リンパ管にも高濃度に証明されたと述べている。また、Pavone-Macaluso ら²¹⁾は thiotepa, adriamycin, daunomycin の経膀胱的吸収について報告し、正常粘膜においてもそれぞれ平均10, 2, 11%が吸収され、TUR 後、anaplastic tumor, cystitis の存在でいずれも吸収は増加すると述べている。本邦においても thiotepa をはじめ、MMC²²⁾、5-FU、FT207²³⁾、ADM²⁴⁾、carboquone²⁵⁾などの経膀胱的吸収に関する報告がある。しかしながら、これら抗癌剤の膀胱壁透過性に関する研究は先に述べたように基礎的にも十分に説明できない現状に加えて、ほとんどが血中濃度や膀胱内注入液の回収率などから間接的に透過性を論じているにすぎないため、真の吸収の有無、吸収の機序、吸収後の薬剤の代謝、生体内動態、排泄といった数多くの点が未だ解明されておらず、抗癌剤注入療法の基礎的知識としては、はなはだ不十分と言わざるをえない。

こうしたことから著者は現在臨床、特に尿路悪性腫瘍に頻用されている 5-FU、MMC、BLM、ADM をとりあげ、これらの経膀胱的吸収について基礎的実験を行なった。その結果、4薬剤のうち 5-FU、ADM

は、膀胱内注入後尿路変更尿中または胆汁中に証明されることから、あきらかに経膀胱的に吸収されることがわかった。

このうち、5-FU については膀胱内腔に約1時間保持後、おそくとも6時間目までに0.08%が尿管尿中に回収された。血中には3時間保持後でも、0~0.06 mg/ml 証明されるのみであって胆汁中には排泄されない。三品ら²³⁾は、5-FU、FT207、MMC の経膀胱的吸収について検討し、分子量の小さい 5-FU、FT207 は比較的良好に吸収され、膀胱所属リンパ節にも高濃度証明されると述べている。5-FU は尿路変更後のいわゆる遺残膀胱において、全身投与により、直接膀胱内腔へ移行しうること²⁶⁾からもその透過性については分子量が小さいということがもっとも有利な条件になっているものと思われる。

一方、ADM は膀胱内腔に注入後、血中にはほとんど証明されないが、12時間目までに胆汁中に平均4.1%、尿管尿中に1.9%が回収された。1時間あたりの回収量は胆汁中、尿中ともに膀胱内注入後、2, 3時間目が peak であり、12時間後まで排泄は持続する。12時間以後も排泄は行なわれていることが予想され、ADM は 5-FU に比べて、はるかに排泄は遅延する。

ADM は分子量約580と比較的大きいにもかかわらず、ラット正常膀胱粘膜においても、かなりの量が経膀胱的に吸収されることがわかる。これは ADM の持つ、強い組織破壊性と浸透性によると推測される。すなわち、接触した膀胱粘膜表層細胞間の tight junction を ADM が破壊するために透過性が亢進ことは、し、組織への浸透が増加するものと考えられる。この臨床において ADM 膀胱内注入時、ときに強い膀胱炎激症状をきたすことと関係があるのかも知れない。

透過性を証明できなかった MMC、BLM についてはいずれも高分子量であることが理由としてあげられる。ただ、MMC は組織に吸着されやすく、組織中で非常に不活性化されやすい性質をもつ。このため吸収はされるが、組織での不活性化のため血中、尿中および胆汁中に証明されないだけなのかもしれない。

藤田²⁷⁾によると、正常状態において静脈内投与された 5-FU は2時間後には血中より消失し、腎、筋肉、脾などに高濃度分布する。また、根岸ら²⁸⁾によると、ADM は静脈内投与後すみやかに血中濃度は低下し、10分後には90%以上が消失し、肝、腎、脾、心臓に高濃度分布する。こうした組織への易吸着性をあわせ持つ薬剤は膀胱内注入後たとえ血中に証明されなくてもすでにかかなりの量が吸収されている可能性がある訳である。とくに、ADM については、吸収後、吸着され

た組織からの遊離が緩徐であり、組織での蓄積が問題となる。したがって、いかなる薬剤でも安易に膀胱内に注入することは許されず、吸収の有無、吸収後の他臓器への影響、組織での蓄積など、十分に検討したうえで行なわれなければならない。

膀胱内注入療法はこれまで low grade, low stage の腫瘍にしか効果がないとされてきた。これに対し、尾崎²⁴⁾は ADM 膀胱内注入療法の臨床成績を検討し、low grade, high grade 両群間には有効率に大差はないと述べている。また、三品ら²³⁾は 5-FU は経膀胱的によく吸収されることから深層腫瘍および転移リンパ節に対する治療効果も期待しようと述べている。こうした点を考えあわせると、膀胱内注入療法は、膀胱癌に対してすぐれた感受性を持ち、かつ透過性に富む薬剤を使用すれば将来、手術療法、放射療法などの併用により、進行癌に対してもある程度有効な治療手段の1つになりうるのではあるまいか。

ま と め

1. 尿路変更をしたラット膀胱内に 5-FU, MMC, BLM, ADM を3時間保持させた後の血中濃度は0ないし trace 程度であるが、5-FU, ADM は尿中にそれぞれ0.15%, 0.46%が回収された。5-FU, ADM については、さらに尿路変更と胆管瘻を作成したラットを使用し、経膀胱的吸収後の排泄動態について調べた。その結果、5-FU は膀胱内に1時間保持させた後、6時間以内に尿中に0.08%が回収された。6時間以後の尿中および胆汁中にはまったく回収されなかった。ADM は12時間以内に尿中に1.92%, 胆汁中に4.14%が回収された。このことは、両薬剤はあきらかに経膀胱的に吸収され全身に分布していることを示している。

2. 膀胱内注入療法を行なう場合、薬剤の経膀胱的吸収に関する検討とともに、吸収後の他臓器への影響、組織での蓄積、排泄などに関する検討も行なわなくてはならない。

本論文の要旨は第66回日本泌尿器科学会総会ならびに第16回癌治療学会総会において報告した。稿を終えるに際し、御指導、御校閲をいただいた恩師酒徳治三郎教授ならびに桐山 啓夫助教授（現 京都大学助教授）に深謝します。

参 考 文 献

1) 犬塚 信：下部尿路における治療其他の薬物溶液の吸収に関する実験的研究。（第IX編）膀胱における各濃度硫酸マグネシウム溶液の吸収（態度）に関する生化学的研究。日泌尿会誌，49：785～

820, 1958.

- 2) Hicks, R. M.: The permeability of rat transitional epithelium: the relationship between structure and function. Br. J. Derm., 81: 23～30, 1969.
- 3) Fellows, G. J. & Marshall, D. H.: The permeability of human bladder epithelium to water and sodium. Invest. Urol., 9: 339～344, 1972.
- 4) Hankim, A. A. et al.: Fluxes of Na and Cl in the dog urinary bladder. Invest. Urol., 2: 348～354, 1965.
- 5) Turnbull, G. J.: Ultrastructural basis of the permeability barrier in urothelium. Invest. Urol., 11: 198～204, 1973.
- 6) Semple, J. E.: Papillomata of bladder treated with podophillin, preliminary report. Brit. med. J., 1: 1235～1237, 1948.
- 7) Bateman, J. C.: Chemotherapy of solid tumors with triethylene thiophosphoramide. New Engl. J. Med., 252: 879～987, 1955.
- 8) Jones, H. C. & Swinney, J.: Thiotepa in the treatment of tumors of the bladder. Lancet, 2: 615～618, 1961.
- 9) 藤田 浩・ほか：抗癌剤の bioassay について。メディアサークル，92：1～12, 1967.
- 10) Rosso, R. et al.: Plasma and urinary levels of adriamycin in man. Europ. J. Cancer., 8: 455～459, 1972.
- 11) Borzelleca, J. F.: Studies on the mechanisms of drug movement from the isolated urinary bladder. J. Pharmacol. Exp. Ther., 148: 111～116, 1965.
- 12) Fellows, G. J.: Permeability of normal and diseased human bladder epithelium. Proc. roy. Soc. Med., 65: 299～300, 1972.
- 13) Maluf, N. S. R.: Absorption of water, urea, glucose and electrolytes through the human bladder. J. Urol., 69: 396～404, 1953.
- 14) 川井 博・小川秀弥：膀胱腫瘍の化学療法。臨泌. 24: 1093～1099, 1970.
- 15) Strohmenger, P. & Sack, H.: Resorption radioaktiv markierter Substanzen aus Harnblase und isolierter Dünndarmschlinge. Urologia internationalis, 21: 538～548, 1966.
- 16) 酒本貞昭・ほか：Neocarzinostatin による膀胱癌の化学療法。医学のあゆみ，101: 87～90, 1977.

- 17) 足立卓三：膀胱内注入抗菌性物質の膀胱壁内移行・尿路感染に対する尿中抗菌性物質の意義について。日泌尿会誌, **62**: 220~240, 1971.
- 18) Cole, D. R. et al.: Absorption and activity studies on intraluminal thio-tepa in the dog's bladder. J. Urol., **94**: 556~558, 1965.
- 19) Lunglmayr, G. & Czech, K.: Absorption studies on intraluminal thio-tepa for topical cytostatic treatment of low stage bladder tumors. J. Urol., **106**: 72~74, 1971.
- 20) Milroy, E. J. G. et al.: The bladder lymphatics. A study of drug transport. Invest. Urol., **12**: 69~73, 1974.
- 21) Pavone-Macaluso, M. et al.: Permeability of the bladder mucosa to thiotepa, adriamycin and daunomycin in men and rabbits. Urol. Res., **4**: 9~13, 1976.
- 22) 小川秀彌：膀胱腫瘍に対する抗腫瘍剤マイトマイシンCおよび放射性同位元素 ^{32}P の膀胱内注入療法。(I)~(IV)日泌尿会誌, **60**: 717~755, 1969.
- 23) 三品輝男・ほか：膀胱癌に関する研究。第3報：抗癌剤の経膀胱的吸収について。京都医大誌, **84**: 613~630, 1975.
- 24) 尾崎雄治郎：膀胱腫瘍に対する Adriamycin の膀胱腔内注入療法。その1. 主として臨床成績の検討。日泌尿会誌, **68**: 934~944, 1977.
- 25) 小幡浩司・ほか：膀胱腫瘍に対する Carboquone の膀胱内注入療法。泌尿紀要, **22**: 761~766, 1976.
- 26) 永田一夫・ほか：抗癌剤の膀胱壁透過性について—5-FU, MMC, Bleomycin の膀胱内移行について—。Chemotherapy, **26**: 396, 1978.
- 27) 藤田 浩：Bioassay 法による抗癌剤の体内分布、排泄、不活性化の特性について。総合臨床, **20**: 1350~1359, 1971.
- 28) 根岸嗣治・ほか：The Absorption, Excretion, Distribution and Metabolism of Adriamycin. 基礎と臨床, **7**: 425~431, 1973.

(1979年1月11日受付)