

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2報： ^3H -Adriamycin の経膀胱的吸収，
体内分布，排泄について

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 ANTICANCER
AGENTS THROUGH THE BLADDER

—BASIS OF THE INSTILLATION THERAPY—

II. DISTRIBUTION AND EXCRETION
OF THE ABSORBED ^3H -ADRIAMYCIN

Kazuo NAGATA

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

The absorption of ^3H -adriamycin through rat urinary bladder and the subsequent distribution and excretion of the absorbed adriamycin were studied.

Male Wistar rats weighing 300 to 350 g were used. A ureter was exposed and half-incised transversely, using a stereoscopic microscope. A polyethylene tube with an outer diameter of 0.024 inches was inserted through this incision, in the same manner as an ureterostomy, and the opposite kidney was extirpated. As for the bile, the same tube was inserted into the bile duct. Then, ^3H -adriamycin (10.79 $\mu\text{Ci}/0.3\text{ ml}/300\text{ }\mu\text{g}$ adriamycin) was injected into the bladder. Following the instillation of the adriamycin over an one hour period, the filled bladder was excised. Thereafter the urine and bile were collected every 3 hours for the next 12 hours. In another group, the liver, spleen, kidney and heart were extirpated 1 and 12 hours after the injection, respectively.

The following results were obtained.

1) The recovery rate of the residual ^3H -adriamycin in bladder one hour after instillation was 81.7% and the vesical tissue level was 175.9 $\mu\text{g/g}$ on an average.

2) The tissue concentrations of ^3H -adriamycin one hour after the injection were 0.19 $\mu\text{g/g}$ in the liver, 0.36 $\mu\text{g/g}$ in the spleen, 0.31 $\mu\text{g/g}$ in the kidney, and 0.21 $\mu\text{g/g}$ in the heart.

3) The recovery rate of ^3H -adriamycin into the urine was 0.66%, and the rate of it into bile was 4.22% during 12 hours.

4) The tissue concentrations of ^3H -adriamycin 12 hours after the injection were 0.52 $\mu\text{g/g}$ in the liver, 0.67 $\mu\text{g/g}$ in the spleen, 0.49 $\mu\text{g/g}$ in the kidney and 0.33 $\mu\text{g/g}$ in the heart.

Adriamycin is well absorbed through bladder, and then distributed to various organs, particularly liver, spleen, kidney and heart. The absorbed adriamycin is very slowly excreted into bile and urine.

緒 言

膀胱腫瘍に対する抗癌剤の膀胱内注入療法はまだ歴史も浅く、基礎的にも充分検討が行なわれているとはいえない。すなわち、注入された薬剤の吸収性の有無、局所組織内濃度、吸収後の全身組織への分布、代謝、排泄など数多くの未解明な点がある。

このため、著者は第1報¹⁾において各種抗癌剤—5-FU, mitomycin C, bleomycin, adriamycin—をとりあげ、ラット膀胱でのこれら薬剤の経膀胱的吸収について検討を行なった。その結果、5-FU および adriamycin は膀胱内注入後、血中にはほとんど証明されないものの、尿管尿中、胆汁中にはかなり高濃度に認められることから、あきらかに経膀胱的に吸収されていることがわかった。また、これら2薬剤は同一条件、同一形態で吸収されている訳ではなく、吸収後の生体内動態もまったく異なっていることもあきらかとなった。つまり、薬剤の経膀胱的吸収に関しては、定説をあてはめることは難しく、個々について、さまざまな角度から検討しなければならないことがわかる。

そこで、今回は膀胱癌に対して優れた感受性を有し、かつ、あきらかな膀胱粘膜透過性を有する adriamycin を取り上げ、吸収後の組織分布、代謝、排泄などについて検討を行なったので報告する。

実験材料および実験方法

1. 使用薬剤

トリチウムガス照射法にて標識された adriamycin (以下、 ^3H -adriamycin と略す) を非放射性 adriamycin と混合し、蒸留水にて溶解したものを使用した。

2. 実験方法

前報と同様の実験モデルを用いた。すなわち、体重300~350 g の Wistar 系雄性ラットに尿管瘻および胆管瘻を造設した。このラット膀胱内腔に ^3H -adriamycin 溶液 ($10.79 \mu\text{Ci}/0.3 \text{ ml}/300 \mu\text{g} \cdot \text{adriamycin}$) を注射針にて注入し、1時間後に膀胱内注入液を含めて膀胱を摘出した。膀胱内に注入後、3時間ごとに12時間後まで尿および胆汁を採取した。また、同様のモデルを用い、注入1時間後と12時間後にラットを脱血死させ、それぞれ肝、脾、腎、心臓などを摘出した。なお、ラットの脱水を防ぐため、注入6時間後に、腹腔内に生理食塩水 3 ml を注入した。

3. 濃度測定方法

(1) 組織

各臓器 100~150 mg (但し、膀胱のみ 10 mg 前後)

を秤量し、乾燥後、サンプルオキシダイザー (Aloka ASC 111) 処理し、液体シンチレーションカウンター (Aloka LSC 653) にて計測を行なった。

(2) 体液

胆汁、尿、血清については 20~50 ml をトリトン系シンチレーター (DPO 6g/トリトン X-100 : トルエン (3:1) 1 l) に直接溶解し、液体シンチレーションカウンターにて計測した。膀胱内注入液と投与原液は5,000倍に希釈した後、同様に計測した。

(3) 濃度換算

dpm/g or ml を計算したあと、原液より算出した比放射能 ($10.79 \mu\text{Ci}/300 \mu\text{g} \cdot \text{adriamycin}$) を用いて $\mu\text{g/g}$ or ml を求めた。

成 績

尿管瘻 および 胆管瘻 を作成したラット膀胱内に、 ^3H -adriamycin を1時間注入したのちの注入液の回収

Table 1. Recovery rate of the residual ^3H -adriamycin in rat bladder and its vesical tissue level after 1 hour of instillation.

Rat No.	Recovery rates	Vesical tissue levels
1	90.4 %	141.1 $\mu\text{g/g}$
2	59.8	175.9
3	94.8	210.9
aver.	81.7	175.9

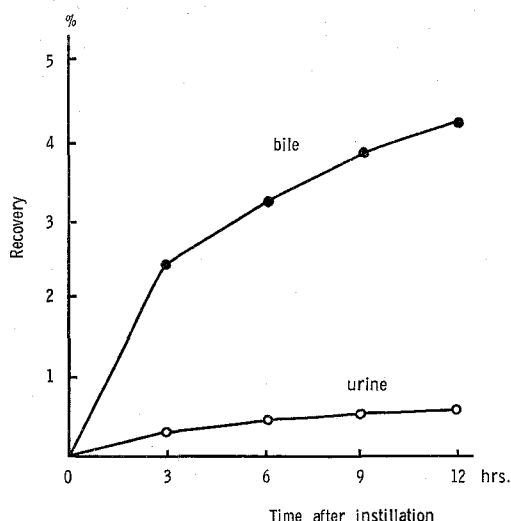


Fig. 1. Biliary and urinary recovery of the instilled ^3H -adriamycin in urinary-diverted rats.

Table 2. Biliary and urinary excretion of the instilled ^3H -adriamycin.

Time after instillation	bile				urine		
	volume	concentration	recovery		volume	concentration	recovery
0-3 h	0.4 ml	2.08 $\mu\text{g}/\text{ml}$	0.83 μg	0.28 %	2.0 ml	3.55 $\mu\text{g}/\text{ml}$	7.10 μg 2.37 %
3-6	0.5	0.83	0.42	0.14	1.5	1.76	2.64 0.88
6-9	0.5	0.44	0.22	0.07	1.1	1.54	1.69 0.56
9-12	1.3	0.39	0.51	0.17	0.7	1.74	1.22 0.41

Table 3. Tissue levels of ^3H -adriamycin after the instillation.

organs	1 hr. later	12 hrs. later
Liver	0.19 $\mu\text{g}/\text{g}$	0.52 $\mu\text{g}/\text{g}$
Spleen	0.36	0.67
Kidney	0.31	0.49
Heart	0.21	0.33
Serum	0.04	0.17

率と膀胱組織内濃度を Table 1 に示した。回収率は平均81.7%，膀胱組織内濃度は平均 175.9 $\mu\text{g}/\text{g}$ であった。

膀胱内注入12時間後までの、胆汁および尿への排泄動態を Fig. 1 と Table 2 に示した。排泄量は注入後0～3時間をもっとも多く、胆汁中に 7.10 μg ，尿中に 0.83 μg が排泄された。その後、排泄量は漸減するが、12時間後までに胆汁中に4.22%，尿中に0.66%が回収された。

注入後のラット臓器内濃度および血清濃度については Table 3 に示した。膀胱内注入1時間後に肝、脾、腎、心臓にそれぞれ 0.19, 0.36, 0.31, 0.21 $\mu\text{g}/\text{g}$ が、12時間後には、0.52, 0.67, 0.49, 0.33 $\mu\text{g}/\text{g}$ が認められた。また、血清中濃度は膀胱内注入1時間後で、0.04 $\mu\text{g}/\text{ml}$ ，12時間後までは 0.17 $\mu\text{g}/\text{ml}$ であった。

考 察

前報において、著者は、膀胱腫瘍に対する抗癌剤の膀胱内注入療法の基礎となる、抗癌剤の経膀胱的吸収について検討した。すなわち、各種抗癌剤を尿管瘻を作成したラット膀胱内に注入したあと、尿管尿中にそれらが排泄されるか否かで直接的な吸収の証明を行なった。その結果、5-FU および adriamycin は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、adriamycin について、さらに、尿管瘻と胆管瘻を作成したラットを用いた実験を行なった。それによると、膀胱内に1時間保持された adriamycin は12時間以内に尿管尿中に1.9%が、胆汁中に4.2%が回収された。また、時間あたりの胆汁への排泄量は膀胱内注入後2～4時間をもっとも多く、平均 2.12 $\mu\text{g}/\text{時間}$ であった。膀胱内注入後の血中濃度についても測定を行なったが、血中 adriamycin 濃度は 0～trace であった。こうした事実は、従来のように、血中濃度を測定するだけではその薬剤の経膀胱的吸収の有無を判断することはできないことを示すと同時に、経膀胱的に吸収される薬剤については吸収後の生体内動態についても詳しく調べる必要があることを示唆しているといえよう。

このため、今回は特に吸収後の生体内動態についてさらに詳細な検討を行なうべく、トリチウムをラベルした adriamycin を用いて実験を行なった。その結果、膀胱内に注入された、 ^3H -adriamycin は直ちに経膀胱的に吸収され、肝、脾、腎をはじめ広く組織に分布し、その後、0～3時間をピークとして徐々に胆汁中および尿中に排泄され続けることがわかった。そのパターンは前報に述べた非放射性 adriamycin における実験結果とほぼ同様であった。すなわち、胆汁中の方が尿中に比べて、より排泄は高濃度であり、膀胱内注入後9～12時間経ても、なお、排泄は行われていた。また、12時間後の各臓器内濃度は、注入1時間後とはほぼ同程度に認められた。注入1時間後の膀胱組織内濃度も高く、この点でも優れた吸収能を示している。

膀胱内注入後の末梢血中濃度に関しては、Pavone-Macaluso ら²⁾はヒトおよびウサギに thiotepa, adriamycin, daunomycin を注入したところ、血中には thiotepa のみ trace 程度認められただけで、adriamycin と daunomycin はまったく認められなかった

と述べ、Banks ら³⁾も13例の stage A の移行上皮癌患者に対して、doxorubicin hydrochloride を膀胱内注入したがいずれも血中には証明されなかったと述べている。同様に、螢光分析法で測定した前報の著者の実験でも、膀胱内注入後、末梢血中にはほとんど証明されなかった。しかしながら、放射性同位元素を用いた今回の実験では注入1時間後と12時間後においても微量ながら検出できた。つまり、1つの測定方法で血中に証明されないからといって、吸収されないと断定することはできないし、これまで吸収されないとされてきた物質や薬剤も、実際にはより容易に吸収されているのかもしれない。本実験はおもに、吸収後の生体内動態をみるため、膀胱内注入1時間後に膀胱液も含めて膀胱摘除を行なったが、膀胱が存在している状態であれば、膀胱組織内の adriamycin が clearance されること、あるいは組織から遊離し、尿中に排泄された adriamycin の一部は再度経膀胱的に吸収される、いわゆる尿路サイクルといったことも想定されることから、より高値の生体内濃度を示すことが予想される。

このようにして、経膀胱的に吸収される薬剤の生体内動態に関しては、これまでに報告がないため、全身投与時のそれと比較検討する他ない。Di Fronzo ら^{4,5)}によると、全身投与された adriamycin の血中濃度は投与後、速やかに低下し、半減期は投与後30分であり、根岸ら⁶⁾は、全身投与後2分ですでに40%が血中より消失し、10分後には90%以上が消失していると述べている。投与後の全身組織への分布についてみると、Rosso ら⁷⁾は特に脾、リンパ節、骨髓に高濃度に分布するといひ、根岸ら⁶⁾は脳、睪丸以外の全身で認められるが、脾、肺、腎、肝、心臓で高濃度に認められると報告している。脳、睪丸への分布について、Di Fronzo ら⁴⁾は投与後5脳脊髄液中に証明されなかったことから、adriamycin は blood-brain barrier を通過しないであろうと述べているが、blood-testicular barrier についても同様のことがいえるのかもしれない。こうして、一旦、速やかに組織へ取り込まれた adriamycin は排泄が非常に緩徐であり、長時間体内に停滞する。根岸ら⁶⁾は、ラット静脈内に投与された ³H-adriamycin は投与後まもなく排泄が行なわれるが、胆汁中へは24時間で37%、48時間で44%が排泄され、尿中へは24時間で12%が排泄されているといひ、Di Fronzo ら⁴⁾もヒトについてはほぼ同様のデータを報告している。すなわち、尿中には投与後24時間までに12%が排泄され、7日間で尿中に22.7%が、便中には15~45%が排泄され、血中にも、少なくとも7日間は微量ながら証明されたと述べている。したがって、

各臓器内濃度も比較的長時間にわたって持続する。Yesair ら⁸⁾は、10 mg/kg の adriamycin を mice に投与し、48時間後においてもなお、1.0~5.0 µg/g が、先に述べた主要臓器組織中に存在しているのを認めている。本実験においても、膀胱内注入後、速やかに胆汁中および尿中に排泄が行なわれていること、注入1時間後にすでに各臓器に分布しており、12時間経ても、ほとんど濃度に変化がないことなど、これら全身投与時と似た生体内分布、排泄をしているといえよう。

三品ら⁹⁾は、膀胱内に注入された 5-FU が吸収後、膀胱付属リンパ節にも高濃度に認められることから、進行癌に対しても、その効果が期待できると述べている。adriamycin の場合にも、先に述べたように、注入後全身臓器に分布していることなどから、膀胱周囲組織やリンパ節などにも分布する可能性があり、進行癌に対しても、ある程度期待できるかも知れない。しかしながら、一方では、adriamycin は組織との親和性が強く、組織内での不活性化などの代謝をうけにくい¹⁰⁾、一旦吸収されると長時間体内に停滞する。したがって、臨床において、長時間にわたって連続的に膀胱内注入をする場合には、吸収後、主要臓器での蓄積といったことも問題となりうるし、副作用の出現には充分注意しなければならないであろう。

経膀胱的に吸収された薬剤は、それぞれ異なった経過で代謝、排泄が行なわれている。どのような薬剤でも、安易に膀胱内に注入されるべきではなく、吸収の状態、代謝、排泄、全身に及ぼす影響などについても詳しく検討する必要がある。

ま と め

尿管瘻および胆管瘻を造設したラット膀胱内に ³H-adriamycin を注入し、経膀胱的吸収後の生体内分布、排泄などを検討した。結果はつぎのごとくであった。

1) 膀胱内注入1時間後の注入液の回収率は平均81.7%であり、膀胱組織内濃度は平均175.9 µg/g であった。

2) ³H-adriamycin は経膀胱的に吸収された後、広く全身に分布する。膀胱内注入1時間後の臓器内濃度は肝、脾、腎、心臓でそれぞれ0.19, 0.36, 0.31, 0.21 µg/g であった。

3) 排泄は注入後0~3時間をピークとして徐々に胆汁中および尿中より行なわれ、12時間までに胆汁中に4.2%、尿中に0.7%が回収された。

4) 膀胱内注入12時間後の臓器内濃度は肝、脾、腎、心臓でそれぞれ0.52, 0.67, 0.49, 0.33 µg/g であ

った。

4) adriamycin は組織との親和性が強く、その排泄は非常に緩徐であるため、一旦、吸収されると長時間体内に停滞する。

本論文の要旨は、第16回日本癌治療学会総会において発表した。

稿を終えるに際し、御指導、御校閲を賜った恩師酒徳治三郎教授に深謝致します。実験について御指導を頂いた広中弘講師をはじめ、教室内各位ならびに京都大学桐山寛夫助教授の御厚意に感謝します。また、 ^3H -adriamycin の提供を頂いた日本モンテジソン株式会社、濃度測定について御協力頂いた協和醗酵工業株式会社に感謝します。

文 献

- 1) 永田一夫：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。泌尿紀要, 25: 481~487, 1979.
- 2) 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.
- 3) Banks, M. D. et al.: Topical instillation of doxorubicin hydrochloride in the treatment of recurring superficial transitional cell carcinoma of the bladder. J. Urol., 118: 757~760, 1977.
- 4) Di Fronzo, G. et al.: Distribution and excretion of adriamycin in man. Biomedicine, 19: 169~171, 1973.
- 5) Benjamin, R. S. et al.: Pharmacokinetics and metabolism of adriamycin in man. Clin. Pharmacol. Ther., 14: 592~600, 1973.
- 6) 根岸嗣治・高平汎志：The absorption, excretion, distribution and metabolism of adriamycin. 基礎と臨床, 7: 425~431, 1973.
- 7) Rosso, R. et al.: Plasma and urinary levels of adriamycin in man. Europ. J. Cancer, 8: 455~459, 1972.
- 8) Yesair, D. W. et al.: Comparative pharmacokinetics of daunomycin and adriamycin in several animal species. Cancer Res., 32: 1177~1183, 1972.
- 9) 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.
- 10) 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.

(1979年5月14日受付)