

【原著・基礎】

ヌードマウス移植ヒト大腸癌に対する 5-fluorouracil 間歇投与の
有用性に関する検討

藤田 正 信

帝京大学医学部外科*

(平成 15 年 12 月 2 日受付・平成 16 年 2 月 5 日受理)

ヌードマウス皮下に継代移植されたヒト大腸癌株 Exp-388 を用い、5-fluorouracil (5-FU) の投与スケジュールによる抗腫瘍効果を検討した。治療による F-RNA (腫瘍組織内 RNA に取り込まれた 5-FU) および TS (thymidylate synthase) の変化を検討した。腫瘍細胞浮遊液を用い、CD-DST (collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test) を行い、5-FU の抗腫瘍効果の時間および濃度依存性を検討した。5-FU 間歇投与は連日投与に比べ、有意に高い抗腫瘍効果を示した。5-FU 間歇投与では連日投与に比べ F-RNA が有意に高く持続性を示し、TS に関しても長時間にわたる抑制を見た。CD-DST の結果、5-FU の抗腫瘍効果は接触時間にも薬剤濃度にも同程度に依存しており、5-FU は Exp-388 に対し type I b の薬剤として作用することが判明した。

Key words: 5-fluorouracil, colon cancer, intermittent administration, nude mouse, collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test

5-fluorouracil (5-FU) は代表的な代謝拮抗薬であり、大腸癌をはじめとする消化器癌に対し、第一選択薬として広く使用されている^{1,2)}。しかし、その至適投与方法に関しては、間歇投与と持続投与の優劣をめぐって議論が多く、いまだに結論が得られていない。これまでのところ、抗腫瘍効果については両者に明らかな差がないため、骨髄抑制が有意に少ない持続投与が推奨されている³⁾。しかし、G-CSF (granulocyte-colony stimulating factor) の登場により、骨髄抑制が必ずしも抗癌化学療法 dose limiting factor とはならなくなり、副作用よりも抗腫瘍効果を重視する傾向が強くなりつつある。5-FU に関しても、抗腫瘍効果増強の観点から、biochemical modulation や肝転移に対する動注療法などにおいて、間歇投与の有用性が示唆される成績が報告されている^{4,5)}。

本論文では 5-FU 間歇投与の有用性ならびにその発現機序につき、ヌードマウス移植ヒト大腸癌株を用い、*in vivo* としてヌードマウスによる治療実験、*in vitro* として CD-DST (collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test) を用いて実験的検討を行った。

I. 材料と方法

1. ヌードマウスを用いた治療実験

三協ラボサービス(株)より購入した BALB/c ヌードマウス (体重 20~25 g の雄) を用いた。ヌードマウスの飼育は帝京大学中央動物施設のアイソラック内で行い、滅菌した水と飼料を与えた。

腫瘍は北里研究所病院外科で樹立されたヒト大腸癌株 Exp-388 (高分化腺癌) を用いた (Fig. 1)⁶⁾。腫瘍を無菌的に摘出し、眼科用ハサミで 3 mm 角に細切した腫

瘍ブロック 1 個を外套針を用いてマウス両側背部皮下に移植し、ノギスを用いて、週 3 回腫瘍の長径 (L, mm) と短径 (W, mm) を計測した。

薬剤は協和発酵(株)より供与された注射用 5-FU (50 mg/mL) を生理食塩水で希釈し、腹腔内に投与した。連日投与群では 10 ないし 20 mg/kg を 5 投 2 休 (5 日間連日投与して 2 日間休薬する) のスケジュールで投与し、間歇投与群では 50 ないし 100 mg/kg を週に 1 回投与した。対照群および各治療群にはそれぞれ 4 匹ずつのマウスを割り当て (7 腫瘍)、治療期間は 5 週間とした。

治療実験はヌードマウス移植癌を用いた抗悪性腫瘍薬

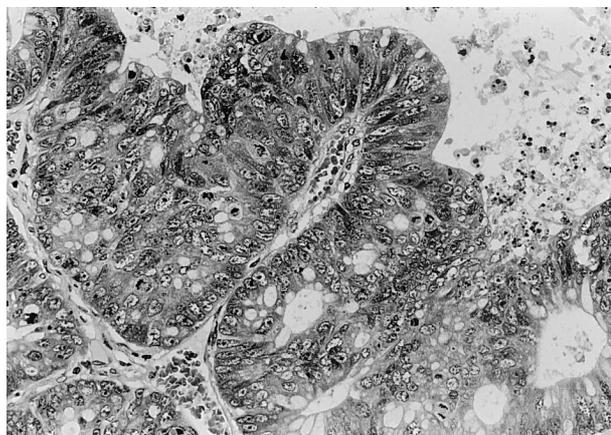


Fig. 1. Histology of Exp-388. Well-differentiated adenocarcinoma, human colon cancer serially transplanted subcutaneously to nude mice.

のスクリーニングのためのプロトコール (Battelle Columbus Laboratories Protocol)⁷⁾にしたがって実施した。すなわち、腫瘍を移植後、各測定時にプロトコールに示されている計算式 ($L \times W^2/2$, mg) により推定腫瘍重量を算出した。治療実験は推定腫瘍重量が 100~300 mg に達した時点で開始した。治療開始後は対照群 (C) および各治療群 (T) について、各測定時の推定腫瘍重量 (W_i) と治療開始時の推定腫瘍重量 (W_0) との比 (W_i/W_0) を求めた。

毒性の判定については、体重減少が 20% を超えた場合毒性ありと判定した。また、治療実験終了時にマウスを屠殺し脾臓重量を計測した。

2. 腫瘍組織内の生化学的検討

1) F-RNA (組織 RNA 中の 5-FU 濃度) 測定法

組織に冷水を加えホモジナイズし、冷-10% トリクロロ酢酸、水-95% エタノール溶液、95% エタノール、エーテル (3:1) 混液を用いて振とう、および遠心分離を順に繰り返し、脂肪、その他の不溶物 (上清画分) を除去した後、最終的に得られた沈殿物に 0.3 N-KOH を加え 37°C、16~20 時間インキュベートし、60% 過塩素酸を加えて中和して遠心分離した。得られた上清に 3 N-KOH を加え、生じた過塩素酸カリウムの沈殿物を除去して mononucleotide (MNT) 溶液を得た。

RNA-標準溶液と MNT 溶液にオルシン溶液を加え、100°C、20 分反応させ、冷水下で反応を停止させ生成物の吸光度を測定し MNT 中の RNA 含量測定を行った。さらに MNT 溶液に内部標準溶液、HCL を加え、RNA 溶液に標準溶液、内部標準溶液、HCL を加え加水分解、溶媒抽出、カラム処理して 5-FU を抽出した。DTFBB (3,5-di(trifluoromethyl)benzyl bromide) でラベル化し溶媒を除去してヘキササンで溶解後、GC-MS (gas chromatography mass spectrometry) に注入して CI 法 (chemical ionization) で検出定量して 5-FU の微量測定を行った。

2) 腫瘍内 TS (thymidylate synthase) 測定法

TS 測定は tritium release 法によって行った。腫瘍組織を秤量し、酵素抽出液を加えてホモジナイズした後、遠心分離操作により上清を分取し、抽出酵素を得、メチル・テトラヒドロ葉酸の混合液中に基質 ($^3\text{H-dUMP}$) を加え 37°C でインキュベートした。10, 20, および 30 分後の反応液を活性炭を含むトリクロロ酢酸溶液中に添加して、酵素反応の停止と過剰の基質を活性炭に吸着させて遠心分離し、上清中の生成した $^3\text{H}_2\text{O}$ 量を液体シンチレーションカウンターで測定した。タンパク量の測定は Lowry 法によって行った。タンパク 1 mg の活性を求めるために、抽出酵素液 (40~100 倍希釈液) および標準液 (牛血清アルブミンの 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.3 mg/mL 液) に炭酸ナトリウム・アルカリ性銅液を加え、さらにフェノール試薬を加えて発色させ 750 nm

で吸光度を測定、標準液の検量線より濃度を求めた。

3. CD-DST

CD-DST は小林らの方法に準じて行った⁸⁾。腫瘍をペースト状になるまで細切し、酵素処理により径 30 ミクロン以下の腫瘍細胞塊浮遊液を得た。予備培養で viability の高い腫瘍細胞のみを回収し、最終濃度が 1×10^5 cells/mL となるよう type I コラーゲン溶液中に懸濁させた。この懸濁液を 6 ウェルマイクロプレート中に 30 μL ずつ滴下し、ゲル化を待ち、培養液を添加した。翌日、最終濃度が 0.01~1,000 $\mu\text{g/mL}$ となるよう培養液中に 5-FU を添加し、2.4, 24, および 120 時間接触させた。薬剤を含んだ培養液を吸引除去して 2 回洗浄し、新しい培養液を添加して 7 日間 (120 時間接触群では 3 日間) 培養した。培養終了時にニュートラルレッドを添加して染色し、画像解析装置で腫瘍細胞コロニーの体積を計測した。

4. 統計学的検定

統計学的検定には t 検定を用い、 $p < 0.05$ を有意差ありとした。

II. 結 果

1. 治療実験

5-FU 10 mg/kg 連日投与群では腫瘍の増殖抑制がほとんどみられなかったのに対し、50 mg/kg 間歇投与群では治療開始後 7 日前後より腫瘍の増殖抑制が発現し、両群間に有意差を認めた。50 mg/kg 間歇投与の T/C 比の最小値は 47% であった (Fig. 2)。5-FU 20 mg/kg 連日投与群では治療開始後 10 日前後より腫瘍の増殖抑制を認め、T/C 比の最小比は 58% に達した。一方、100 mg/kg 間歇投与群はより強い腫瘍増殖抑制効果を示し、治療開始後 14 日前後より両群間に有意差を認めた。100 mg/kg 間歇投与群の T/C 比の最小値は 23% であった (Fig. 3)。さらに、50 mg/kg 間歇投与群は、総投与量が半分であるにもかかわらず、20 mg/kg 連日投与群と同等以上の腫瘍増殖抑制効果を示していた。

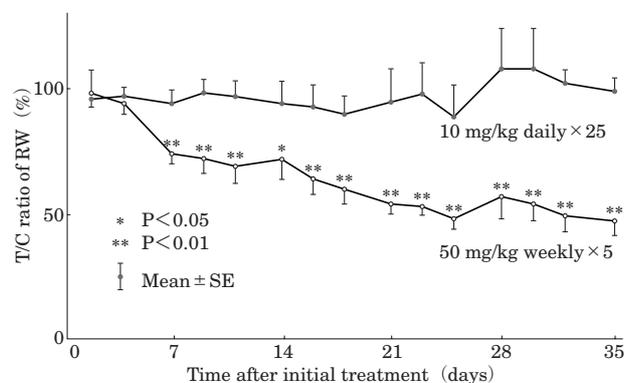


Fig. 2. Antitumor effect of 5-fluorouracil against Exp-388. Effects of weekly 50 mg/kg dosage ($n=7$) were significantly stronger than those of daily 10 mg/kg dosage ($n=7$).

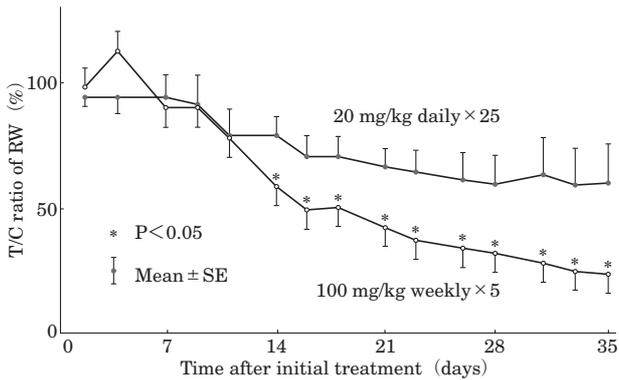


Fig. 3. Antitumor effects of 5-fluorouracil against Exp-388. Effects of weekly 100 mg/kg dosage (n=7) were significantly stronger than those of daily 20 mg/kg dosage (n=7). Effects of daily 20 mg/kg dosage were similar to those of weekly 50 mg/kg dosage.

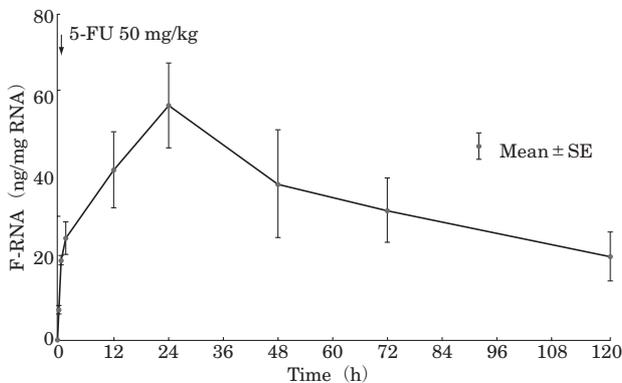


Fig. 4. Short-term change in F-RNA (5-fluorouracil incorporated into RNA) after administration of 5-fluorouracil (n=4). In a single 50 mg/kg dosage, F-RNA increased significantly and decreased slowly. An arrow shows 5-fluorouracil dosage.

いずれの群にも毒性死はなく、体重減少も20%を超えるものはなく、治療群間で有意差を認めなかった。また脾臓重量にも各治療群間の有意差を認めなかった。

2. 生化学的検討

1) F-RNAの経時的変化

5-FU投与後120時間までのF-RNAの経時的変化をFigs. 4, 5に示した。5-FU 50 mg/kg投与群では比較的速やかにF-RNA濃度は上昇し、投与後24時間でピーク(57 ng/mg RNA)に達した。ピーク後のF-RNA濃度の低下は緩徐であり、投与後120時間の時点でも20 ng/mg RNA以上を維持していた(Fig. 4)。5-FU 10 mg/kg連日投与群では投与開始後84時間までは緩やかにF-RNA濃度が上昇する傾向がみられたが、それ以後120時間まではむしろやや低下していた。10 mg/kg連日投与群のF-RNAの最高値は23 ng/mg RNAであり、50 mg/kg間歇投与群の最低値と同等であった(Fig. 5)。50 mg/kg間歇投与群における投与後120時間までの濃度曲線下面積(AUC)は4,221 ng/mg RNA・hであり、

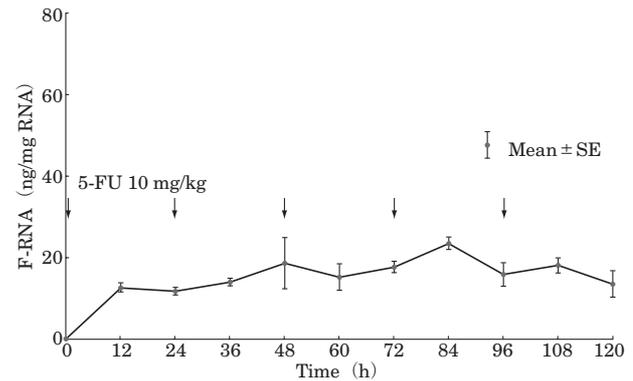


Fig. 5. Short-term change in F-RNA (5-fluorouracil incorporated into RNA) after administration of 5-fluorouracil (n=4). In a daily 10 mg/kg dosage, F-RNA was sustained at lower levels. Arrows show 5-fluorouracil dosage.

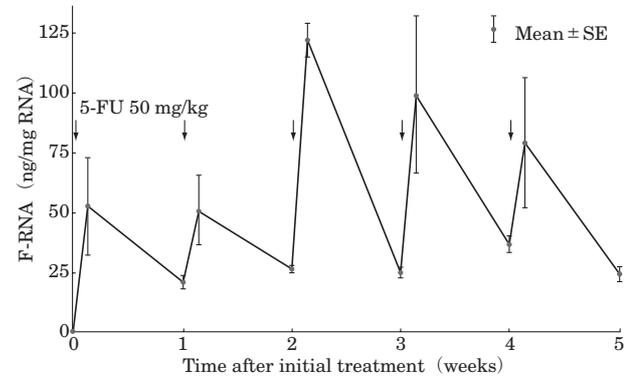


Fig. 6. Long-term change in F-RNA (5-fluorouracil incorporated into RNA) after administration of 5-fluorouracil (n=4). In a weekly 50 mg/kg dosage, F-RNA increased significantly during week 3 and decreased slowly. Arrows show 5-fluorouracil dosage.

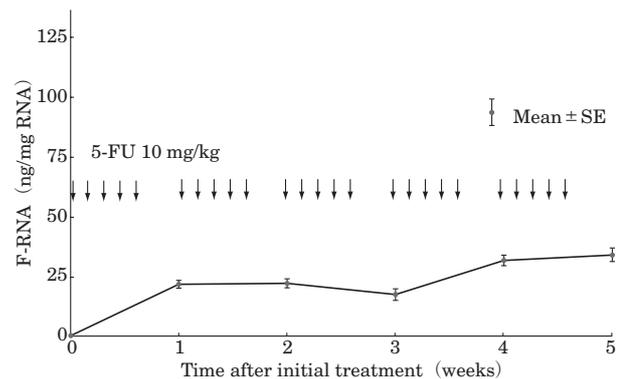


Fig. 7. Long-term change in F-RNA (5-fluorouracil incorporated into RNA) after administration of 5-fluorouracil (n=4). In a daily 10 mg/kg dosage, F-RNA was sustained at a similar level. Arrows show 5-fluorouracil dosage.

10 mg/kg連日投与群のそれ(1,833 ng/mg RNA・h)に比べ2.3倍高値を示した。

治療開始後5週間までの長期的な経時的変化をFigs.

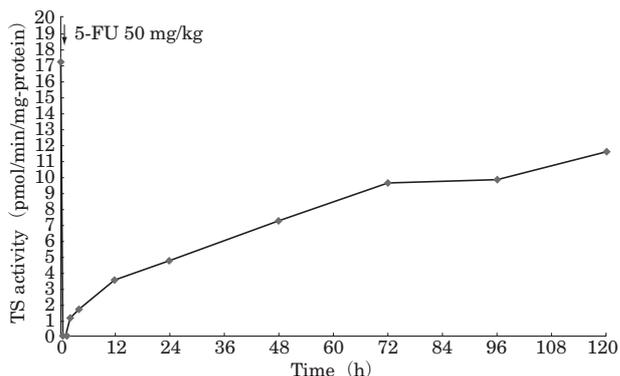


Fig. 8. Short-term change in TS (thymidilate synthase) after administration of 5-fluorouracil (n=2). In a single 50 mg/kg dosage, TS activity disappeared immediately and recovered slowly. An arrow show 5-fluorouracil dosage.

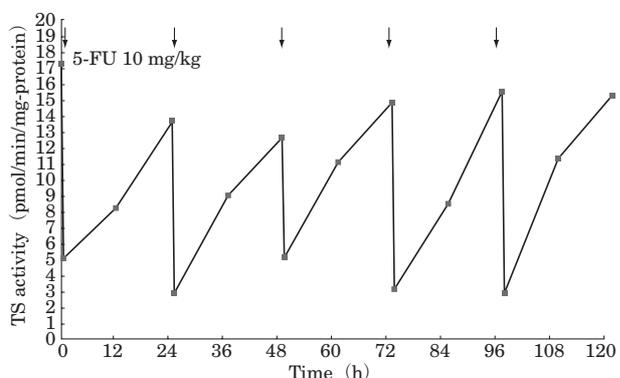


Fig. 9. Short-term change in TS (thymidilate synthase) after administration of 5-fluorouracil (n=2). In a daily 10 mg/kg dosage, TS activity decreased immediately to about 25% of control and recovered to about 85% within 24 hours. Arrows show 5-fluorouracil dosage.

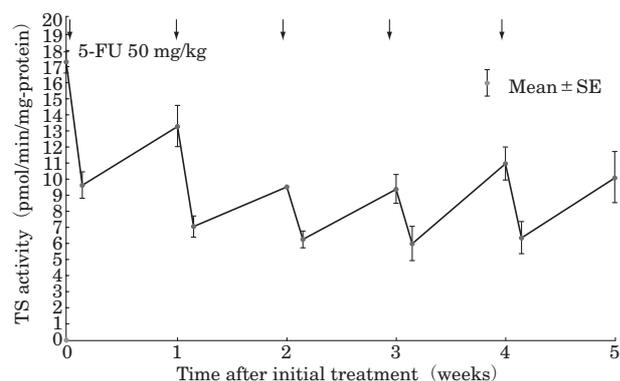


Fig. 10. Long-term change in TS (thymidilate synthase) after administration of 5-fluorouracil (n=4). In a weekly 50 mg/kg dosage, TS activity decreased slowly over time. Arrows show 5-fluorouracil dosage.

6, 7 に示した。5-FU 50 mg/kg 間歇投与群では 1~2 回目投与に比べ、3 回目投与後の F-RNA 濃度は明らかに高値を示したが、それ以後はむしろピークがやや低下

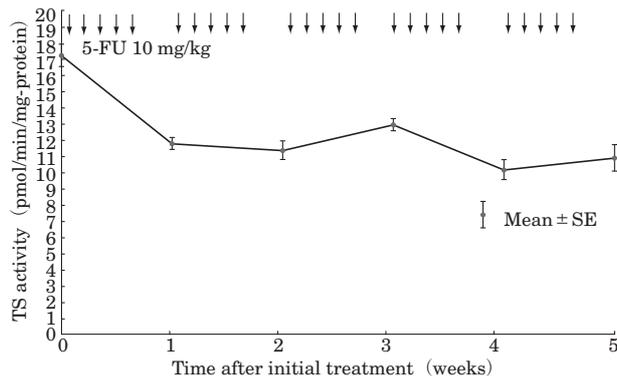


Fig. 11. Long-term change in TS (thymidilate synthase) after administration of 5-fluorouracil (n=4). In a daily 10 mg/kg dosage, TS activity was sustained at a similar level during 5 weeks. Arrows show 5-fluorouracil dosage.

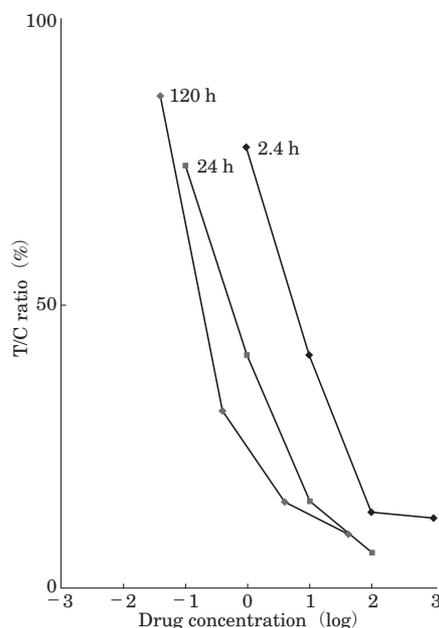


Fig. 12. Antitumor effect of 5-fluorouracil against Exp-388 *in vitro* (CD-DST).

する傾向を認めた (Fig. 6)。5-FU 10 mg/kg 連日投与群では F-RNA の蓄積はみられなかった (Fig. 7)。

2) TS の経時的変化

5-FU 投与後 120 時間までの TS の経時的変化を Figs. 8, 9 に示した。5-FU 50 mg/kg 投与群では投与後 30 分の時点で、TS 活性がほぼ完全に阻害され、以後緩やかに TS 活性が回復するのが観察された。投与後 120 時間の時点の TS 活性は 12 pmol/min/mg-protein であり、投与前の 60% に相当していた (Fig. 8)。5-FU 10 mg/kg 連日投与群では TS 活性が投与後速やかに 25% 前後まで阻害されたが、24 時間後には投与前の 85% 前後にまで回復するという過程が繰り返されていた (Fig. 9)。

治療開始後 5 週間までの長期的な経時的変化を Figs.

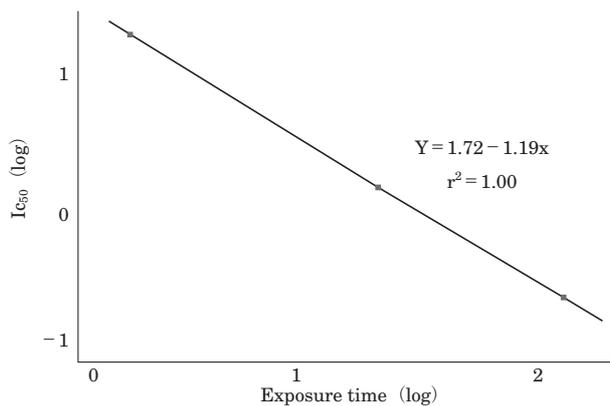


Fig. 13. Correlation between IC_{50} (drug concentration for 50% inhibition of tumor growth) and exposure time of 5-fluorouracil. Antitumor effect of 5-fluorouracil against Exp-388 depended equally on concentration and exposure time of the drug.

10, 11 に示した。50 mg/kg 間歇投与群 (Fig. 10), 10 mg/kg 連日投与群 (Fig. 11) とともに TS 抑制の増強は見られなかった。

3. CD-DST

Exp-388 に対する 5-FU の *in vitro* における抗腫瘍効果を片対数で表示した (Fig. 12)。腫瘍細胞コロニー体積の T/C 比は、5-FU の接触濃度が高まるにしたがい直線的に低下した。また、薬剤の接触時間が長くなるほど増殖抑制曲線が左方に平行移動し、効果の増強を認めた。このグラフより腫瘍細胞の 50% 増殖抑制に要する薬剤濃度 (IC_{50}) を求め、薬剤接触時間との関係を両対数でプロットしたところ、両者間には推計学的に有意の負の相関関係を認め、回帰直線の傾きは -1.19 であった (Fig. 13)。

III. 考 察

5-FU は代表的な代謝拮抗薬として、多くのがんに対して第一選択薬として使用されている。しかし、その投与方法に関しては議論が多く、いまだに結論が得られていない。

In vitro の検討から、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の接触時間に依存するとされている⁹⁾。また、固形がんでは DNA を合成する S 期のがん細胞は比較的少数で大腸癌ではわずか 3% 程度といわれているため¹⁰⁾、S 期細胞へ移動時に使用する代謝拮抗薬である 5-FU が、がん細胞中の標的反応系で有効に働くためには、血中半減期が 10~20 分である急速静注投与より、5-FU とがん細胞の長時間接触による殺細胞効果が期待できる持続投与が推奨されている^{11,12)}。

Lokich らは 5-FU 300 mg/m² を持続点滴静注することにより、従来の standard loading dose と同等の効果を示し、副作用が有意に減少したと報告している¹³⁾。Hansen らは転移性の進行大腸癌患者を対象に、5-FU の bolus 静注と低用量持続静注の比較臨床試験を行った

結果、低用量持続静注法は白血球減少を主とする血液毒性は bolus 静注よりはるかに少なく、対腫瘍効果は奏効率 18% 対 28% で持続静注群がやや良好であったが、延命率に差は認められなかったと報告している¹⁴⁾。

一方、Codacci-Pisanelli¹⁵⁾ らは UDPG (uridine diphosphoglucose) rescue を用い、マウスに 150 mg/kg と大量の 5-FU を投与し、耐性大腸癌に有効であったとの報告をしている。太田ら¹⁶⁾ はラットを用いた肝動注実験で、5-FU を短時間で投与した方が持続投与するよりも良好な効果を示したと報告している。臨床の場合でも、大腸癌の肝転移に対する 5-FU の動注療法では、週 1 回、しかも短時間で投与が好成績を上げており、標準的治療法となっている⁵⁾。さらに、5-FU の効果増強を目的とした biochemical modulation では、5-FU は週 1 回の間歇投与で優れた成績を上げている⁴⁾。

5-FU は生体内でリン酸化を受け、FdUMP および FUTP (5-fluorouridine triphosphate) となる。前者は 5,10-メチレンテトラヒドロ葉酸 (Me-THF) および TS と covalent ternary complex (共有結合三重複合体) を形成することにより、DNA 合成の律速酵素である TS 活性を阻害する。後者は uridine triphosphate の代わりに RNA に取り込まれ、ribosomal RNA の processing の阻害をはじめとする種々の RNA 機能を障害する¹⁷⁾。FdUMP は細胞内の deoxyribose-1-phosphate が低濃度のため、thymidine phosphorylase, thymidine kinase の経路から生成されることは少なく、むしろ FUDP が RR (ribonucleotide reductase) により還元され、FdUDP (5-fluorodeoxyuridine diphosphate) となってから脱リン酸化作用を受け、FdUMP が生成される経路が主体である。

したがって、FdUMP が UK (uridine kinase) によりリン酸化され FUTP になる反応と、RR により還元され FdUMP になる反応が分かれ目となり、DNA と RNA に対する比重が決まることになる。5-FU の投与量が少ないか、投与速度が遅い場合には RR が効率よく働き、FdUMP 生成に向かうため DNA に対する作用が前面に現れるが、5-FU の高用量を急速に投与した場合、RR の酵素活性が飽和され FUTP 生成に向かい、RNA に対する作用が強くと発現するものと考えられている¹⁸⁾。

5-FU は dihydrouracil dehydrogenase の作用により、肝を中心とする組織内で速やかに代謝される。この酵素的異化作用は 5-FU の投与量が少ないか、あるいは投与速度が遅い場合には、投与量依存性に効率的に行われる。一方、短時間に高用量の 5-FU を投与した場合には、酵素の作用が飽和され、5-FU の血中濃度曲線下面積が加速度的に大きくなり、効果が増大されるとされている¹⁹⁾。

以上より、5-FU の投与方法としては必ずしも持続投与が至適とは言い切れず、間歇投与の有用性についてもあ

らためて検討する必要があると考えられた。

そこで、著者はヌードマウス移植ヒト大腸癌株 Exp-388 を用い、5-FU による治療実験を行った。その結果、総投与量を合わせた場合、週 1 回間歇投与群は週 5 日連日投与群に比べ有意に強い抗腫瘍効果を示した。さらに、50 mg/kg 間歇投与群は総投与量が半分であるにもかかわらず、20 mg/kg 5 日間投与群と同等以上の効果を示し、5-FU の間歇投与の有用性は明らかであった。

5-FU 投与後の腫瘍内 F-RNA を測定した結果、50 mg/kg 投与群は 10 mg/kg 連日投与群のそれに比べ 2 倍以上の高値を示し、間歇投与が優れた抗腫瘍効果を示した原因と考えられた。上記のように今回の実験においては、血中の 5-FU 濃度が下がっても、腫瘍組織内の RNA 中の 5-FU 濃度は保たれ、連日投与と比べても長期にわたってむしろ高い値を示していたことから RNA 阻害の点からは間歇投与が腫瘍によっては連日投与より有効に働く可能性があるといえる²⁰⁻²³⁾。一方、腫瘍内 TS 活性については、5-FU 10 mg/kg 投与では投与直後でも TS 抑制は 70% 前後にとどまっておらず、抗腫瘍効果につながらなかったと考えられた。また 50 mg/kg 投与でも、投与直後には 100% 抑制されたものの 80% 以上の抑制は 12 時間しか持続しておらず、抗腫瘍効果に与える影響は少ないと考えられた。

CD-DST は腫瘍細胞をコラーゲンゲル内に包埋培養する *in vitro* 抗癌薬感受性試験であり、腫瘍が生体内に近い状態で増殖でき、従来の方法に比べ評価可能率が高いことから、その有用性が期待されている^{8, 24-26)}。5-FU に関しては、臨床で到達可能な薬剤濃度での評価が可能であること、薬剤の除去が容易で、しかも細胞に与えるダメージが少ないことから、今回の実験に応用することにした。

Exp-388 に対する 5-FU の抗腫瘍効果を CD-DST により検討し、縦軸に 50% 増殖抑制に必要な薬剤濃度を、横軸に薬剤との接触時間を両対数でプロットすると両者間には有意の負の相関関係が認められ、回帰直線の傾きはほぼ -1 となった。この成績から、Exp-388 に対する 5-FU の抗腫瘍効果は、薬剤濃度と接触時間の双方に同等に依存すると判定された。本来、5-FU は type II の抗癌薬に分類され、その効果は薬剤濃度よりも有効濃度以上の薬剤との接触時間に強く依存するとされている²⁷⁾。しかし、Exp-388 に対する 5-FU の作用はむしろ type I b 薬剤のそれに相当しており、このため間歇投与が優れた効果を示したと考えられた。稲葉¹⁷⁾は 5-FU の作用には二面性があり、低濃度域では type II 薬剤として、高濃度域では type I b 薬剤として、作用することを指摘している。CD-DST は本来、癌細胞の抗癌薬に対する感受性を判定する試験であるが、5-FU に関しては、その至適投与法の推定にも応用できる可能性があると考えられた。

謝 辞

研究の機会をいただき直接ご指導くださった、帝京大学外科小平 進教授、前帝京大学第一外科講師花谷勇治先生に感謝します。また、原稿の御校閲を賜った帝京大学外科沖永功太教授に深謝します。

本論文は第 48 回日本化学療法学会東日本支部総会において発表し、編集委員会より学会誌に投稿するよう推薦を受けたものである。

文 献

- 1) 相羽恵介: 化学療法。癌と化療 23: 535~548, 1996
- 2) Hobday T J, Erlichman C: Adjuvant therapy of colon cancer, a review. Clin Colorectal Cancer 1: 230~236, 2002
- 3) Lokich J J: Infusional 5-FU: Historical evolution, rationale, and clinical experience. Oncology 12 (S-7): 19~22, 1998
- 4) Lokich J J: Improving 5-fluorouracil: Biomodulation, pharmacomodulation, or infusional administration schedules?. Cancer Investigation 16: 293~294, 1998
- 5) 栗原聰元, 中崎晴弘, 渡邊正志, 他: 大腸癌肝転移に対する肝切除および動注化学療法による治療。癌と化療 29: 2105~2107, 2002
- 6) Yamada T, Fujinaga S, Suzuki T, et al.: Antitumor activity of chemotherapeutic drugs against human carcinomas as assayed on nude mouse system and by *in vitro*, Clonogenic, ATP and MTT Assays Wu in B-q, Zheng J (eds): Immune-Deficient Animals in Experimental Medicine. 6th Int. Workshop on Immune-Deficient Animals, Beijing, 1988. Basel, Karger, p. 295~300, 1989
- 7) Ovejera A A, Houchens D P, Barker A D: Chemotherapy of human tumor xenografts in genetically athymic mice. Ann. Clin. Lab. Sci. 8: 50~56, 1978
- 8) Kobayashi H, Tanisaka K, Doi O, et al.: An *in vitro* chemosensitivity test for solid human tumors using collagen gel droplet embedded cultures. Int J Oncol 11: 449~455, 1997
- 9) 下山正徳, 木村禧代二: 各種抗癌剤の *in vitro* における殺細胞効果について—L-1210 細胞を中心に—。最新医 28: 1024~1040, 1973
- 10) Shackney S E: Tumor growth, cell cycle kinetics, and cancer treatment. Med Oncol (2nd ed.), (Calabresi P, Schein P S, eds.), p. 43~60, McGraw-Hill, Inc., New York, 1993
- 11) Fraile R J, Baker L H, Buroker T R, et al.: Pharmacokinetics of 5-fluorouracil administered orally, by rapid intravenous and by slow infusion. Cancer Res 40: 2223~2228, 1998
- 12) Sobrero A F, Aschele C, Guglielmi A P, et al.: Synergism and lack of cross-resistance between short-term and continuous exposure to fluorouracil in human colon adenocarcinoma cells. J Natl Cancer Inst 85: 1937~1944, 1993
- 13) Lokich J J, Ahlgren J D, Gullo J J, et al.: A prospective randomized comparison of continuous infusion fluorouracil with a conventional bolus schedule in metastatic colorectal carcinoma: A Mid-Atlantic

- Oncology Program Study. *J Clin Oncol* 7: 425~432 1989
- 14) Hansen R M, Ryan L, Anderson T, et al.: Phase III study of bolus versus infusion fluorouracil with or without cisplatin in advanced colorectal cancer. *J Natl Cancer Inst* 88: 668~673, 1996
 - 15) Codacci-Pisanelli G, Van der Wilt C L, Smid K, et al.: High-dose 5-fluorouracil with uridine-diphosphoglucose rescue increases thymidylate synthase inhibition but not 5-fluorouracil incorporation into RNA in murine tumors. *Oncology* 62: 363~370, 2002
 - 16) 太田 潤: 動注化学療法における 5-fluorouracil の至適投与方法に関する実験研究 (第一報)—持続動注モデル動物の作成と 5-fluorouracil の投与方法による効果と副作用の比較—。癌と化療 10: 2353~2361, 1983
 - 17) 稲葉 實: 薬剤耐性機構と克服。5-FU 耐性。「current review 癌化学療法 1990-1991」鶴尾 隆・西條長宏編, p. 84~90, 中外医学社, 東京, 1990
 - 18) Mulkins M A, Heidelberger C: Biochemical characterization of fluoropyrimidine-resistant murine leukemic cell lines. *Cancer. Res.* 42: 965~973, 1982
 - 19) 藤田 浩: 沸化ピリミジン化合物の生体内動態。癌と化療 11: 2307~2315, 1984
 - 20) Leichman C G, Fleming T R, Muggia F M, et al.: Phase II study of fluorouracil and its modulation in advanced colorectal cancer: A Southwest Oncology Group study. *J Clin Oncol* 13: 1303~1311, 1995
 - 21) 長岡信彦: 投与スケジュールによる 5-fluorouracil の抗腫瘍効果に関する実験的検討。帝京医学雑誌 3: 149~160, 1997
 - 22) 花谷勇治, 小平 進, 長岡信彦, 他: 5-fluorouracil 投与による代謝拮抗作用。日化療会誌 44: 557~559, 1996
 - 23) Wang W S, Chen P M, Chiou T J, et al.: Weekly 24-hour infusion of high-dose 5-fluorouracil and leucovorin in patients with advanced colorectal cancer: Taiwan experience. *Jpn J Clin Oncol* 28: 16~19, 1998
 - 24) 久保田哲朗: 抗癌剤感受性試験 胃癌補助化学療法は本当に無効か?。癌と化療 24: 495~500, 1997
 - 25) Yamada Y, Kubota T, Kawamura E, et al.: Human tumor cell clonogenic assay with reference to the clinical effect of chemotherapy. *Surg Res Commun* 4: 41~51, 1988
 - 26) Hoffman R M: Can in vitro drug response assays be clinically useful?. Problems and solutions. *Biotherapy* 10: 822~842, 1996
 - 27) 涌井 昭, 石岡千加史: 抗癌剤の体内動態と投与方法。Oncology & Chemotherapy 6: 235~241, 1990

A study on effectiveness of intermittent administration of 5-fluorouracil against human colon cancer transplanted into nude mice

Masanobu Fujita

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

The antitumor effects of 5-fluorouracil (5-FU) by dosage schedule were studied using a human colon cancer (Exp-388) serially transplanted subcutaneously into nude mice. Change in F-RNA (5-FU incorporated into RNA of tumor cells) was measured over time after 5-FU administration. To determine the time and concentration dependence of the 5-FU antitumor effect, a collagen gel droplet embedded culture drug sensitivity test (CD-DST) was conducted using tumor cell suspension. The antitumor effects of 5-FU in intermittent administration were significantly stronger than those in daily dosage. The change in F-RNA after intermittent administration of 5-FU was slow and significantly higher than after daily dosage. CD-DST showed that the antitumor effect of 5-FU against Exp-388 was equally dependent on exposure time and drug concentration acting as a type I b drug.