

Effect of intraperitoneal chemotherapy on experimental peritoneal dissemination of gastric cancer

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-05 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	https://doi.org/10.24517/00026979

This work is licensed under a Creative Commons Attribution-NonCommercial-ShareAlike 3.0 International License.



実験的胃癌腹膜播種に対する腹腔内化学療法の効果

米村 豊^{*1} 遠藤 良夫^{*2} 柄折 静^{*2} 坂東 悦郎^{*1} 川村 泰一^{*1}
島田 勉^{*3} 宮本 謙一^{*3} 田中 基弘^{*4} 佐々木琢磨^{*4}

[*Jpn J Cancer Chemother* 32(11): 1635-1639, October, 2005]

Effect of Intraperitoneal Chemotherapy on Experimental Peritoneal Dissemination of Gastric Cancer: Yutaka Yone-mura^{*1}, Yoshio Endou^{*2}, Shizuka Tochiori^{*2}, Etsuro Bando^{*1}, Taiichi Kawamura^{*1}, Tsutomu Shimada^{*3}, Ken-ichi Miyamoto^{*3}, Motohiro Tanaka^{*4} and Takuma Sasaki^{*4} (^{*1}Peritoneal Dissemination Program, Shizuoka Cancer Center, ^{*2}Dept. of Experimental Therapeutics, Cancer Research Institute, Kanazawa University, ^{*3}Dept. of Pharmacology, Kanazawa University Hospital, ^{*4}Dept. of Pharmacology, Aichi-Gakuin University Hospital)

Summary

In vitro chemosensitivity test using a collagen-gel method was done on 165 primary gastric cancers. All of 5-FU, CBDCA, CDDP and docetaxel showed a high sensitivity. The effects of per oral (po) administration of TS-1, a combination of po TS-1 and intraperitoneal (ip) administration of CDDP, ip 5-FU and ip docetaxel, were evaluated in athymic mice bearing peritoneal dissemination of a gastric cancer cell line (MKN-45-P that shows a high rate of metastasis to the peritoneal cavity of nude mice). Nude mice were inoculated by ip with 10⁷ MKN-45-P cells. No survival benefit was obtained after po administration of TS-1 (12 mg/kg) alone or ip CDDP alone. However, a combination of po TS-1 (8 mg/kg×10 days, from day 3) and ip CDDP (3.5 mg/kg, day 6 and 13) showed a significant survival improvement than that of po TS-1 or ip CDDP treatment alone. ip administration of 30 mg/kg (3 times/week×3 weeks) or 15 mg/kg (6 times/week×3 weeks) of 5-FU significantly improved the survival of mice bearing MKN-45-P. 5-FU concentration of ascites after ip administration of 30 mg/kg of 5-FU was 600-fold higher than po administration of 12 mg/kg of TS-1 at peak level.

ip injections of docetaxel of 8 mg/kg, and 2 mg/kg improved the survival of 4 and 1 mice, respectively, and they were tumor-free on day 90. Survival of mice treated with ip injection of CBDCA (100 mg/kg, on day 3, or 50 mg/kg on day 3 and 10) was significantly better than the control group. These results suggest the potential of po TS-1+ip CDDP, ip 5-FU, ip docetaxel and ip CBDCA administration for the treatment of peritoneal dissemination of gastric cancer. **Key words:** Gastric cancer, Peritoneal dissemination, TS-1, Docetaxel, Intraperitoneal, Chemotherapy

要旨 コラーゲングル法により原発胃癌の薬剤感受性を調べたところ、CBDCA, CDDP, 5-FU, docetaxel (DOC) が高い感受性を示した。胃癌高度腹膜転移株 MKN-45-P を TS-1 (12 mg/kg) で治療した群では、治療開始日に関係なく対照群の生存率と差がなかった。

5-FU 15 mg/kg ip・18回, 30 mg/kg ip・9回投与群ではTS-1 12 mg/kg po (計20回) や対照群に比べ有意に生存率がよかった。5-FU 30 mg/kg ip 投与群の注入液の5-FU濃度は600 μg/ml と高値を示した。TS-1 12 mg/kg 投与60分での腹水中5-FU, CDHP濃度は927±558 ng/ml, 1,483±719 ng/mlであった。CDDP 3.5 mg ip 投与(6, 13日)群, TS-1単独群, 対照群ではMST 36, 28, 32日で差を認めなかった。しかし, CDDP+TS-1(8 mg/kg)群ではMST 50日で有意に他の3群より生存率が良好であった。DOC 8 mg/kg, 2 mg/kg ip 投与群ではMST 90, 63日で, それぞれ4匹, 1匹は腹膜播種が消失していた。DOC 8 mg/kg ip 投与後は8時間後も腹水中DOC濃度(4.58±0.28 μg/ml)は高い濃度を維持していたが, iv 投与では腹水中濃度はip投与後に比べ1/100の値であった。また, 腹膜播種組織内のDOC濃度はip投与8時間ではiv投与後に比べ有意に高い値(4.65±1.33 μg/gr)を示した。CBDCA 50 mg/kg (day 3, 7 ip) 100 mg/kg (day 3, ip) 投与群では有意に対照群より生存率が良好であった。MSTは対照群26.3日, 100 mg/kg群37.7日, 50 mg/kg群40.3日であった。しかし, 体重減少を認めた例はなかった。

以上より胃癌高度腹膜転移株 MKN-45-P による腹膜播種モデルにおいて, 5-FU ip, TS-1 po+CDDP ip, DOC ip, CBDCA ip 療法は有効であり, 臨床への応用が期待される。

^{*2} 金沢大学がん研究所・化学療法部

^{*3} 金沢大学医学部附属病院・薬剤部

^{*4} 愛知学院大学・薬学部

連絡先: 〒411-0932 静岡県駿東郡長泉町下長窪 1007 *1 静岡県立静岡がんセンター・腹膜播種科

米村 豊

0385-0684/05/¥500/論文/JCLS

はじめに

腹膜播種の治療成績は極めて不良であるが、最近様々な新しい治療法が開発されてきている。全身化学療法は腹膜播種に対し一般的に広く用いられているが、腹腔内化学療法は周術期に行われることが多い。周術期腹腔内化学療法には術前・術中・術後早期腹腔内化学療法がある。術前腹腔内化学療法は腹腔内遊離癌細胞を術前に制御し、手術創への癌細胞の転移を減少させること。また、遠隔腹膜の転移巣の数や量を減少させることで完全切除率を上げ、健全な腹膜をできるだけ広く温存するために行われる¹⁻³⁾。

しかし、どのような薬剤をどのような量で腹腔内投与すると延命効果がでるかはいまだ十分解明されていない。われわれは、胃癌高度腹膜転移株 MKN-45-P をヌードマウス腹腔内に移植し、様々な薬剤を腹腔内に投与し効果を検討したので報告する。

I. 方 法

1. コラーゲンをを用いた胃癌組織の薬剤感受性試験

胃癌 165 例の原発巣を Tanaka の方法でコラーゲンゲル上で細切した組織を 3 日間培養した⁴⁾。4 日目に Fig.1 に示す 10 種類の薬剤が臨床投与量で投与された時の最大血中濃度 (peak plasma concentration) になるように調整した培養液で癌組織を 4 日間培養し、MTT 法で癌組織の細胞の生存率を調べた。30%以上の抑制率を示したものを感受性陽性とした。

2. 実験的腹膜播種

低分化胃癌培養細胞株 MKN-45 から樹立した胃癌高度腹膜転移株 MKN-45-P を雌ヌードマウス (KSN nu/nu, SLC, Inc. Hamamatsu, Japan) の腹腔内に 1×10^7 個移植した。この実験系ではマウスは MKN-45-P 移植後 2~5 週で腹水を伴う癌性腹膜炎で全例死亡する⁵⁾。

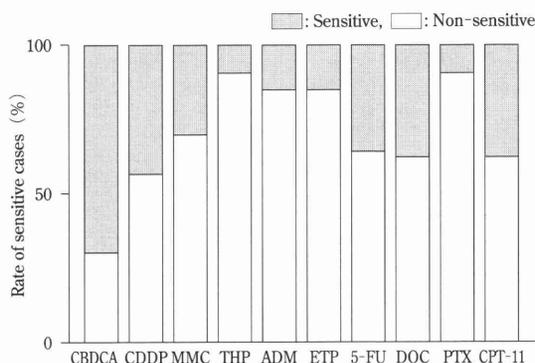


Fig.1 *In vitro* chemosensitivity test using collagen-gel method in 165 primary gastric cancer

3. 実験的腹膜播種に対する腹腔内化学療法の効果

① TS-1 の経口投与と実験: MKN-45-P を腹腔内移植後 1, 3, 4 日目から TS-1 12 mg/kg を週 5 日, 4 週間 (計 20 回) 経口投与した 3 群 (各群 7 匹) の生存率を無処置の対照群と比較した。

② MKN45-P 腹腔内移植後 3 日目から 5-FU 15 mg/kg を週 3 回 6 週 (計 18 回) ip 投与する群, 5-FU 30 mg/kg を週 3 回 3 週 (計 9 回) ip 投与する群を作り, TS-1 12 mg/kg po, 週 5 回 4 週 (計 20 回) 投与する群と対照群と生存率を比較した。

③ TS-1 8 mg/kg を MKN-45-P 移植後 3 日目から週 5 回投与を 2 週行う群 (TS-1 \times 10 群), CDDP 3.5 mg/kg を 6 および 13 日目に腹腔内投与する群 (CDDP 群), さらに TS-1 と CDDP を同じ方法で併用投与する群 (TS-1+CDDP 群) を作製した。生存率を解析するとともに, 投与後 15, 30, 60, 120 分後の腹水中 5-FU, CDHP 濃度を測定した⁶⁾。

④ MKN-45-P 移植後 docetaxel (DOC) 8, 2, 0.5 mg/kg を 3, 5, 9, 12, 16, 19 日目に腹腔内投与し, 生存率を対照群と比較した。腹水中, 腫瘍中 DOC 濃度を HPLC procedures⁷⁾ で測定した。

⑤ CBDCA 100 mg を術後 3 日目のみ, 50 mg/kg を術後 3 日目と 10 日目に腹腔内投与し, 生存率を調べた。

体重が治療後 10%以上低下した例を体重減少と判定した。

4. 結 果

胃癌の *in vitro* 薬剤感受性: 感受性陽性例は, CBDCA, CDDP, DOC, 5-FU で高く, それぞれ 65, 46, 43, 42% が感受性陽性と判定された (Fig.1)。TS-1 の術後 1, 3, 4 日投与群の MST は 29.2, 29.7, 27 日 で対照群の 29.1 days と差を認めなかった (Fig.2)。

次に 5-FU 15 mg/kg \cdot 18 回投与, 30 mg/kg ip. 9 回投与群では TS-1 12 mg/kg po (計 20 回) や対照群に比

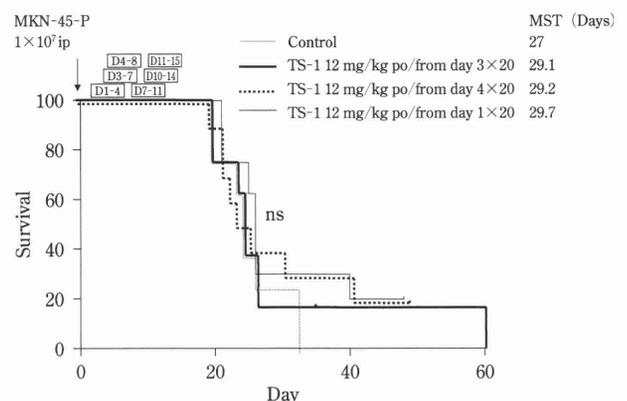


Fig.2 Survival curves of 4 groups of mice bearing peritoneal dissemination of MKN-45-P treated with 12 mg/kg of po TS-1 from day 1, 3 and 4

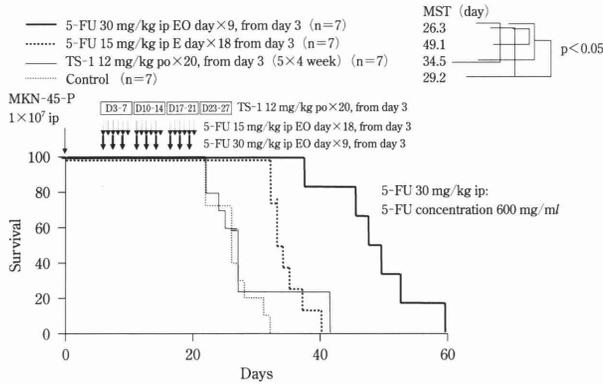


Fig. 3 Survival curves of different groups of mice bearing peritoneal dissemination after inoculation of MKN-45-P cells

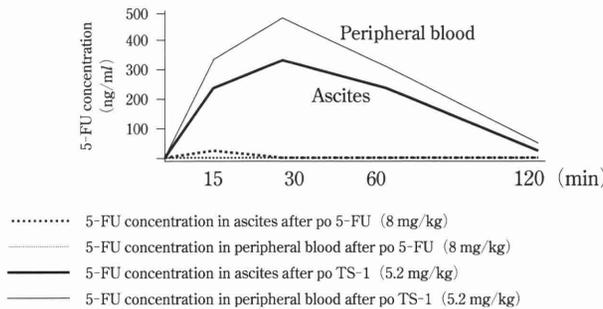


Fig. 5 Pharmacokinetics of 5-FU concentrations after po administration of TS-1 (8 mg/kg) and 5-FU (10 mg/kg)

べ、有意に生存率がよかった。しかも、5-FUの総投与量は変わらないにもかかわらず、30 mg/kg ip 投与群は15 mg/kg ip 投与群に比べ、有意に生存率がよかった (Fig. 3)。5-FU 30 mg/kg ip 投与群の注入液の5-FU濃度は600 μ g/mlであったが、TS-1 2 mg/kg po 1時間後の腹水中5-FU、CDHP濃度は927 \pm 558 ng/ml、1,483 \pm 719 ng/mlであった。

次にTS-1とCDDP併用療法の効果を実験的に確めた。CDDP 3.5 mg ip 投与群ではMST 36日、TS-1単独群 28日、対照群 32日で各群間で差を認めなかった。しかし、CDDP+TS-1群ではMST 50日で有意に他の3群より生存率が良好であった (Fig. 4)。TS-1+CDDP群では体重減少が7匹中2匹にみられたが、副作用による死亡はなかった。CDDP、TS-1群では体重の減少例、副作用死はなかった。TS-1 8 mg/kg 投与後の腹水中、末梢血中5-FU濃度はFig. 5に示す。腹水中、末梢血中5-FU濃度は30分後にピークがあり、それぞれ334、275 ng/mlであった。しかし、5-FU 10 mg/kgの経口投与では末梢血で15分後33 ng/mlと最高値を示した後、まったく検出できなかった。腹水中では5-FU経口投与後5-FUは検出不能であった。DOC 8 mg/kg ip 投与群ではMST 90日であった。1匹が12日目に副作用死したが、4匹は

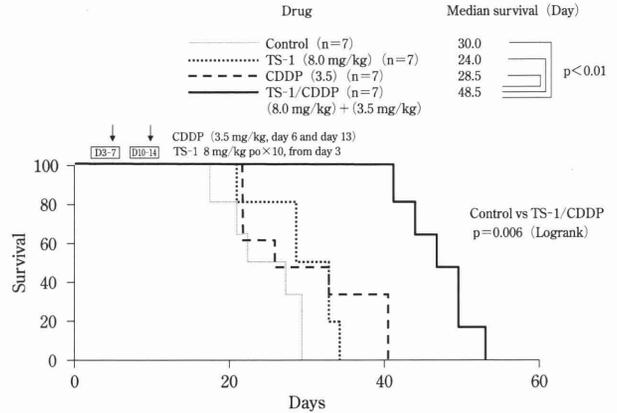


Fig. 4 Survival curves of mice bearing peritoneal dissemination of MKN-45-P, treated with po TS-1 (8 mg/kg \times 10 days), ip CDDP (3.5 mg/kg on day 6 and 13), and po TS-1 + ip CDDP

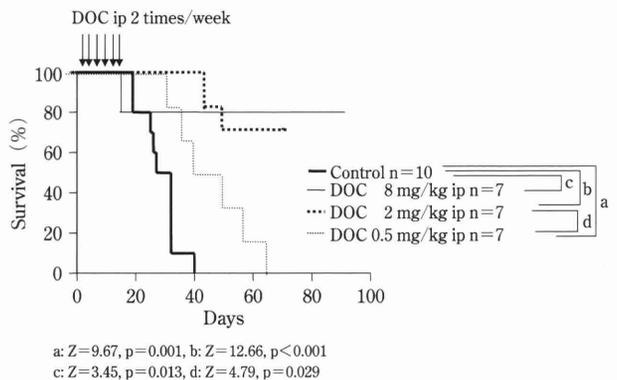


Fig. 6 Survival curves of mice bearing peritoneal dissemination of MKN-45-P, treated with different doses of ip docetaxel on day 3, 5, 9, 12, 16 and 19

90日以上生存し、90日目の犠牲死検索で4匹は腹膜播種が消失していた (Fig. 6)。2 mg/kg 投与群ではMST 63日で4匹が90日以上生存し、1匹は腹膜播種が消失していた。しかし、0.5 mg/kg ip 投与群ではMST 49.5日で71日以内に腫瘍死した。Fig. 7はDOC 8 mg/kgをヌードマウスにip、ivした時の薬剤濃度の推移である (Fig. 7a)。ip投与後は8時間も腹水中DOC濃度 (4.58 \pm 0.28 μ g/ml)は高い濃度を維持していたが、iv投与では腹水中濃度はip投与後に比べ1/100の値であった。また、腹膜播種組織内のDOC濃度はip投与8時間ではiv投与後に比べ有意に高い値 (4.65 \pm 1.33 μ g/gr)を示した (Fig. 7b)。さらに、腹腔内遊離癌細胞内の薬剤濃度はiv投与では0.33 \pm 0.07 ng/10⁴ cells (30分後)から0.17 \pm 0.05 ng/10⁴ cells (8時間後)であった。しかし、ip投与後では4.05 \pm 1.84 ng/10⁴ cells (30分後)から2.65 \pm 0.86 ng/10⁴ cells (8時間後)と8時間まで高い値を維持した (Fig. 7c)。CBDCAを50 mg/kg (day 3, 7 ip) 100 mg/kg (day 3)を投与した群では、有意に対照群より生存率が良好であった。MSTは対照群 26.3日、100 mg/kg群 37.7

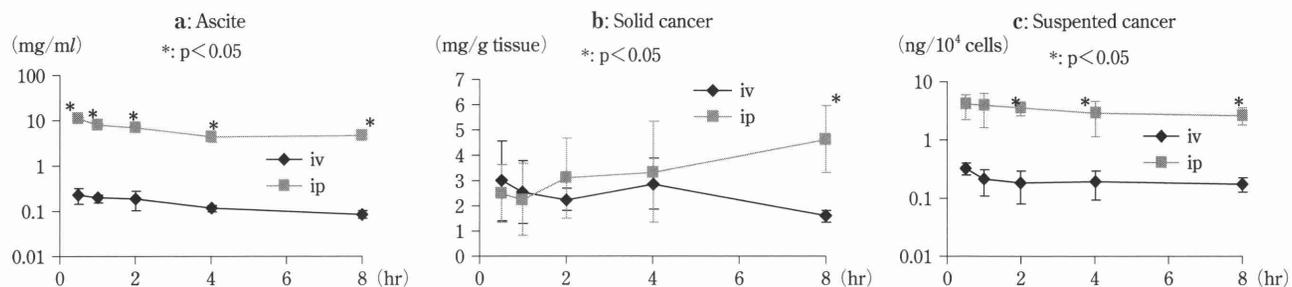


Fig.7 DOC concentrations of plasma and ascites after iv or ip injection of DOC (8 mg/kg) in tumor bearing mice

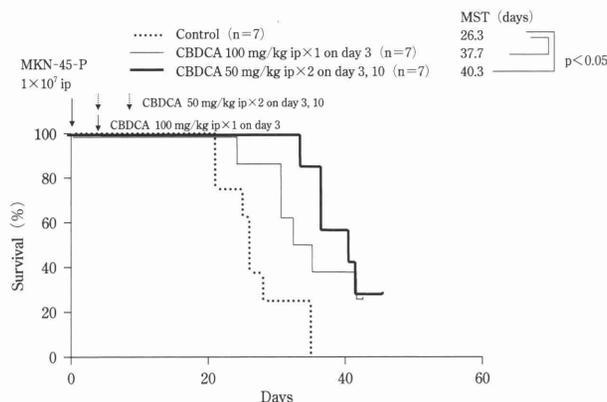


Fig.8 Survival curves of mice bearing MKN-45-P cells after treatment of ip CBDCA of 100 mg/kg on day 3 and 50 mg/kg on day 3 and 10 (n=7).

日, 50 mg/kg 群 40.3 日であった。しかし, 体重減少を認めた例はなかった (Fig.8)。

II. 考 察

癌の種類により薬剤感受性が異なり, 治療に際し感受性試験を参考にした薬剤選択は極めて重要である。コラーゲンゲル法による感受性試験は生体に近い環境での試験であり, 予後と有意な相関があるといわれている⁸⁾。今回の実験では, 胃癌原発巣は 5-FU, DOC, CDDP, CBDCA に高い感受性を認め, 最近の臨床成績と一致する成績であった。この成績から, 5-FU, CDDP, CBDCA, DOC を腹膜播種に対する治療薬剤として選択し, ノードマウス腹膜播種モデルにこれら薬剤を腹腔内投与し, 生存期間を比較した。TS-1 は 5-FU の異化酵素である dihydropyrimidine dehydrogenase (DPD) の阻害剤である CDHP と消化管毒性を抑制する potassium oxonate (Oxo) を 5-FU の prodrug である tegafur (FT) とともに 3 剤配合した新規抗癌剤である。最近 TS-1 は, 胃癌の腹膜播種に極めて有効な薬剤として注目を集めている^{9,10)}。そこで, 12 mg/kg の TS-1 を MKN-45-P 腹腔内移植 1, 3, 4 日目から経口投与し生存率を検討した。これは初期の播種と晩期の播種を TS-1 でどれくらい治療できるかを調べるためであった。TS-1 投与 30 分後の腹水中 5-FU, CDHP 濃度は 927 ng/ml, 1,483 μ g/ml と

ピークになり, 十分な殺細胞効果のある濃度になった¹¹⁾。しかし, TS-1 単独では治療開始日に関係なく対照群と生存率の差がみられなかった。一方, 5-FU 15, 30 mg/kg ip 投与群では生存率が TS-1 投与群より有意に良好であった。そこで腹水中の 5-FU をみると, 5-FU 30 mg/kg ip 投与では投与直後の濃度は 600 μ g/ml と TS-1 12 mg/kg po の最大腹水中濃度 927 ng/ml の 600 倍の値を示していた。これらの群の 5-FU の total dose は 240~270 mg/body と差がなかったため, 生存率の差は腹腔内 5-FU の dose intensity が 5-FU ip では非常に高かったが, TS-1 投与群では十分な腹水内 CDHP 濃度が得られても 5-FU 濃度が維持されないため, 殺細胞効果が低かったと推察している。Fukushima らはマウスでは DPD 活性が高いので, 腹腔内での 5-FU の消失が早いいため治療効果が低いと推察している¹¹⁾。

CDDP は 5-FU の modulator としての作用メカニズムが明確となっている¹²⁾。臨床的にも有効率は 60% を超えるとする報告がある¹³⁾。Shirasaka らは, そのメカニズムを以下のように考えている¹⁴⁾。CDDP が細胞膜におけるメチオニンの能動輸送を阻害することで腫瘍内葉酸濃度が上がり, 5-FU から代謝された FdUMP, TS, メチレンテトラヒドロ葉酸との ternal complex 形成を促進するため CDDP は TS の酵素活性を相乗的に阻害している。

近藤ら¹⁵⁾ もヌードマウス移植ヒト胃癌に対し TS-1+CDDP 併用療法を行い, 相乗効果を認めたとしている。北村ら¹⁶⁾ は, 実験的肝転移に対し TS-1 5 mg/kg 7 日間+CDDP 0.25 mg/kg/day ip 7 日間の投与を行い, 各々の薬剤の単独投与に比べ有意に腫瘍抑制効果があったとしている¹⁶⁾。われわれは, 腹膜播種に対し TS-1/CDDP が効果増強を示すか否かを検討した。その結果, TS-1 単独あるいは CDDP ip 単独では腹膜播種動物の生存率の改善はなかったが, TS-1+CDDP 群で有意な生存率の延長がみられた。近藤らは TS-1 単独より CDDP の併用で腫瘍内 5-FU 濃度が高いことが生存率の延長に寄与したと推察している¹⁵⁾。

次に DOC ip の効果を検討した。DOC は ip 投与された

場合、長時間高い濃度で腹腔内に停留する。DOC 製剤は水に不溶性の DOC を polysorbate 80 でミセルとしたものである。polysorbate 80 が drug-delivery 効果を発揮するので、腹腔内に徐々に DOC が溶出するため腹腔内で長期間検出できるものと考えられている¹⁷⁾。しかも DOC は胃癌培養細胞株に対する IC₅₀ は他の薬剤に比べ低い濃度 (0.1 ng/ml~1.03 μg/ml) であることがわかっている⁴⁾。さらに、腹腔内投与後の末梢血濃度も低いので、副作用の発生も少ない¹⁸⁾。今回の実験では、DOC 投与例の MST が他の治療法と比較しても最も長かった。したがって、DOC は ip 投与に最も適した薬剤であると考えられる。

CBDCA は肺癌や卵巣癌で臨床で多く用いられているが、胃癌では有効率は 20% と報告されている¹⁹⁾。CBDCA 50 mg/kg および 100 mg/kg の ip 投与も体重減少や副作用死することなく生存率を改善させた。

ま と め

以上より胃癌高度腹膜転移株 MKN-45-P による腹膜播種モデルにおいて、5-FU ip, TS-1 po+CDDP ip, DOC ip, CBDCA ip 療法は有効であり、臨床への応用が期待される。

本論文の要旨は第 27 回日本癌局所療法研究会において発表された。

文 献

- 1) Sugarbaker PH, Yu WS and Yonemura Y: Gastrectomy, peritonectomy, and perioperative intraperitoneal chemotherapy: The evolution of treatment strategies for advanced gastric cancer. *Semin Surg Oncol* **21**: 233-248, 2003.
- 2) Glehen O, Kwiatkowski F, Sugarbaker PH, *et al*: Cytoreductive surgery combined with perioperative intraperitoneal chemotherapy for the management of peritoneal carcinomatosis from colorectal cancer. A multi-institutional study of 506 patients. *J Clin Oncol* **15**: 3284-3292, 2004.
- 3) Yonemura Y, Kawamura T, Bandou E, *et al*: Treatment of peritoneal dissemination from gastric cancer by peritonectomy and chemohyperthermic peritoneal perfusion. *Br J Surg* **92**: 370-375, 2005.
- 4) Tanaka M, Obata T and Sasaki T: Evaluation of antitumor effects of docetaxel (Taxotere) on human gastric cancers *in vitro* and *in vivo*. *Eur J Cancer* **32**: 226-230, 1996.
- 5) Yonemura Y, Endou Y, Bando E, *et al*: Effect of intraperitoneal administration of docetaxel on peritoneal dissemination of gastric cancer. *Cancer Lett* **210**: 189-196, 2004.
- 6) Marunaka T and Umeno Y: Quantitative determina-

- tion of 1, 3-bis (tetrahydro-2-furyl)-5-fluoro-2, 4 pyrimidine and its metabolites in plasma by high-pressure liquid chromatography and gas chromatography-mass fragmentography. *J Chromatogr A* **157**: 321-330, 1978.
- 7) van Tellingen O, Beijnen JH, Verweij J, *et al*: Rapid esterase-sensitive breakdown of polysorbate 80 and its impact on the plasma pharmacokinetics of docetaxel and metabolites in mice. *Clin Cancer Res* **5**: 2918-2924, 1999.
- 8) Kubota T, Sasano N, Abe O, *et al*: Potential of the histoculture drug-response assay to contribute to cancer patient survival. *Clin Cancer Res* **1**: 1537-1543, 1995.
- 9) Osugi H, Takada N, Takemura M, *et al*: Fluoropyrimidine anticancer drug TS-1 for gastric cancer patients with peritoneal dissemination. *Oncol Rep* **9**: 811-815, 2002.
- 10) Mikata S, Iwase K, Higaki J, *et al*: TS-1 was prescribed for a patient with stomach cancer with peritoneal dissemination who survived for 3 years and 2 months. *Gan To Kagaku Ryoho* **31**(8): 1225-1227, 2004.
- 11) Fukushima M, Satake H, Uchida J, *et al*: Preclinical antitumor efficacy of S-1: A new oral formulation of 5-fluorouracil on human tumor xenografts. *Int J Oncol* **13**: 693-698, 1998.
- 12) Scanlon KJ, Newman EM, Lu Y, *et al*: Biochemical basis for cisplatin and 5 fluorouracil synergism in human ovarian carcinoma cells. *Proc Natl Acad Sci* **83**: 8923-8925, 1986.
- 13) Yabusaki H, Nashimoto A and Tanaka O: Evaluation of TS-1 combined with cisplatin for neoadjuvant chemotherapy in patients with advanced gastric cancer. *Gan To Kagaku Ryoho* **30**: 1933-1940, 2003.
- 14) Shirasaka T, Shimamoto Y, Ohshimo H, *et al*: Metabolic basis of the synergistic antitumor activities of 5-fluorouracil and cisplatin in rodent tumor models *in vivo*. *Cancer Chemother Pharmacol* **32**: 167-172, 1993.
- 15) 近藤 建, 秋山清次, 笠井保志・他: ノドマウス移植ヒト胃癌に対する S-1・CDDP 併用療法の基礎的検討. *癌と化学療法* **24**(9): 1103-1108, 1997.
- 16) Kitamura M, Arai K, Iwasaki Y, *et al*: Combined effect of S-1 and CDDP as a modulator for colon 26 liver metastasis. *Gan To Kagaku Ryoho* **27**(4): 559-563, 2000.
- 17) van Tellingen O, Beijnen JH, Verweij J, *et al*: Rapid esterase-sensitive breakdown of polysorbate 80 and its impact on the plasma pharmacokinetics of docetaxel and metabolites in mice. *Clin Cancer Res* **5**: 2918-2924, 1999.
- 18) Shimada T, Nomura M and Yokogawa K: Pharmacokinetic advantage of intraperitoneal injection of docetaxel in the treatment for peritoneal dissemination of cancer in mice. *J Pharm Pharmacol* **57**: 177-181, 2005.
- 19) Chang HM, Kim TW, Ryu BY, *et al*: Phase II study of paclitaxel and carboplatin in advanced gastric cancer previously treated with 5-fluorouracil and platinum. *Jpn J Clin Oncol* **35**: 251-255, 2005.