骨原性肉腫に対する methotrexate 大量療法 of 1 症例

——第1報：安全投与のための考察——

五島 博樹・吉屋 誠・大島 修・大塚 和幸
倉地 洋一・南雲 正男・鷺見 正宏*

High dose methotrexate therapy for a case with osteogenic sarcoma

——I. Consideration for safety administration——

Hiroki GOTOH・Makoto YOSHIYA・Osamu OHSHIMA
Kazuyuki OHTSUKA・Yohichi KURACHI・Masao NAGUMO
Masahiro SUMI*

Abstract: A twenty two year-old male with osteogenic sarcoma of the left temporomandibular joint, was received high dose methotrexate (MTX) therapy (200 mg/kg~315 mg/kg) after the recurrence of tumor. To clarify the safety administration technique for high dose MTX therapy, serum and urine concentration of MTX were measured by means of enzyme assay method.

The results obtained were as follows:

- 1) The peak serum concentration of MTX reached more than $1.0 \times 10^{-4}M$ and two phases of serum disappearance were seen after the infusion.
- 2) The serum concentration at 24, 48, 72 hours after the infusion were within the safety range, respectively.
- 3) For several hours after the infusion, the urine concentration of MTX showed high level. On the contrary, the urine pH showed low level with concomitant decrease of its volume.
- 4) The urine excretion of MTX almost finished within 18 hours after the infusion.
- 5) The clinical side effect was limited to nausea and vomiting.

From these results, it was suggested that the monitoring of the serum concentration, urine pH and urine volume was important for the safety administration of high doses MTX therapy.

Key words: osteogenic sarcoma, high dose MTX therapy, safety administration

緒 言

methotrexate (以下 MTX と略す) は、葉酸の代謝結

抗薬として1948年 Farber ら¹⁾ が小児白血病患者に用いて以来、抗悪性腫瘍剤として注目を浴びるようになった。しかし、その副作用および毒性は重篤²⁾で、単独投与に関しては種々の制限があった。

近年、葉酸の一種である citrovorum factor (Leucovorin® 以下 CF と略す) の使用により、MTX の致死毒性を阻止できるようになり³⁾、MTX 大量療法が可能になった。そして、1973年に Jaffe ら⁴⁾ が10例の肺転移をきたした骨肉腫に対して MTX-CF 救援療法を施行して以来、骨肉腫に対する MTX 大量療法が広く行われるようになってきた⁵⁻⁷⁾。しかし、MTX 大量療法は極量の10~100倍以上の MTX を投与することから⁸⁾、致死毒性の危険性も潜在しており、安全に投与するためには血中濃度および排泄動態の把握が絶対に必要とい

昭和大学歯学部第2口腔外科学教室
(主任：南雲正男教授)

* 昭和大学歯科病院薬剤部
(主任：鷺見正宏)

The Second Department of Oral Surgery, School of Dentistry, Showa University (Chief: Prof. Masao Nagumo)

* Department of Pharmacy, Showa University Dental Hospital (Chief: Masahiro Sumi)

受付日：昭和60年11月25日

図 1 臨 床 経 過

写真 1 初診時顔貌所見

写真 2 初診時口腔内所見

家族歴：特記事項なし。

既往歴：特記事項なし。

現病歴：昭和58年7月中旬より左側頬部に腫脹を生じたが、自覚症状が軽度のため放置していたところ腫脹はさらに増大し、同年11月■日に某整形外科より当科を紹介され来院した。

口腔外所見：左側顎角部から頬骨部にかけて約 75 × 70 × 20 mm の腫瘍が認められた。腫瘍は弾性硬、非可動性であり、自発痛および圧痛はなく、皮膚との癒着も認められなかった(写真1)。

口腔内所見：初診時にすでに開口障害があり、最大開口時の上下切歯間距離は 18 mm であった。また、左側下顎第3大臼歯遠心部にび慢性腫脹が認められたが、潰瘍などはみられなかった(写真2)。

臨床診断：左側顎関節部腫瘍。

病理経過：骨原性肉腫。

臨床経過：初診時に試験切除を行い上記の診断を得た。

われている⁶⁾。

今回われわれは、左側顎関節部に発生した骨原性肉腫の再発症例に対して MTX 大量療法を施行し、その投与法に関して若干の知見を得たので報告する。

対 象 症 例

患 者：22歳 男性。

初 診：昭和58年11月■日。

主 訴：左側頬部の腫脹。

ため、昭和58年12月■日に入院し、同年12月■日に全身麻酔下で腫瘍切除術および左側下顎骨半側切除術を行った。術後は adriamycin (以下 ADM と略す) 40 mg を4日に分け投与し、10日間の休薬期間をおき、これを1クールとして3クール行った。また、放射線療法も併用し、 ^{60}Co を1日 1.5 Gy で17日間、total 22.5 Gy まで照射した。さらに、1~5 KE の OK-432 を1日おきに皮内投与した。しかし、腫瘍は種々の療法に反応せず、術後1か月ごろより再び左側頰部に腫脹を生じ、また胸

部X線写真で左中肺野に小さな転移も認められたため、MTX 大量療法の実行を決定した。MTX は6時間点滴静注法で4クール行い、投与量はそれぞれ 200 mg/kg, 250 mg/kg, 300 mg/kg, 315 mg/kg とした。また、1クールおよび2クール終了時にはそれぞれ ADM 80 mg を2日に分け投与した。1クール終了時には腫瘍の縮小がみられたが、その後再び増大し、MTX を増量したにも

図2 阿部、石田らによる High-dose-MTX-CF 療法の骨肉腫に対する臨床試験計画書。(1980)

図3 われわれの行った MTX 投与計画
(2~4クール目には pre-hydration の最後に Meylon® 40 ml, post-hydration の最初に Meylon® 20 ml 追加投与した。)

波長 340 nm

測定範囲 $3 \times 10^{-8} \sim 1.5 \times 10^{-7} \text{ M}$

図4 MTX 測定原理

図 5 血清中 MTX 濃度

かわらず6月に死の転帰をとった(図1)。

MTX 投与法および測定方法

MTX 投与計画: 図2に示した阿部, 石田らの High-dose-MTX-CF 療法の骨肉腫に対する臨床試験計画⁹⁾を modify して行った(図3)。すなわち, vincristine (以下 VCR と略す) は投与せず, CF はすべて静注で行い, acetazolamide (Diamox®) については投与を延長した。

MTX 投与条件: ①白血球数 $4,000/\text{mm}^3$ 以上, ②24時間内因性クレアチニンクリアランス $100/\text{day}$ 以上, ③GOT および GPT は正常値の2倍以下, ④胸水や腹水のないことを投与前に検査確認して行った^{6,10)}。

MTX 測定法: 血清中および尿中の MTX 濃度は, MTX キット(日本レダリー株式会社)を用いた酵素法¹¹⁾で定量した(図4)。すなわち, 一定量の dihydrofolate reductase (以下 DHFR と略す) に MTX を加えると, MTX は DHFR と強く結合して DHFR の酵素活性を阻害する。したがって, MTX の定量は MTX と結合

図 6 1 クール目の MTX 尿中濃度

図 7 1 クール目の尿 pH と単位時間の尿量

していない DHFR の活性, すなわち残余活性を測定することによって得られる。酵素の残余活性は基質の dihydrofolate と補酵素の nicotinamide adenine dinucleotide phosphate 還元型 (以下 NADPH と略す) を用い, 生成される tetrahydrofolate と NADP^+ の量を分光光度計を用い, 340 nm で吸光度の減少を測定し, 検量

図 8 2～4 クール目の MTX 尿中濃度

図 9 2～4 クール目の尿 pH と単位時間の尿量

線より MTX 濃度を算出した。なお、測定範囲は 3.0×10^{-8} — 1.5×10^{-7} M で、検体はこの範囲内に入るように適宜希釈して行った。

図 10 単位時間あたりの MTX 排泄量

結 果

MTX の血清中濃度は図 5 のごとく、MTX 投与終了後 2 相性の減少を示し、半減期は第 1 相で 1.5～2.8 時間、第 2 相で 9.1～18.6 時間であった。また、各クールとも MTX 投与終了時に peak となり、その値は 1 クールで 2.6×10^{-4} M、2 クールで 6.7×10^{-4} M、3 クールで 7.7×10^{-4} M、4 クールで 5.2×10^{-4} M で、いずれも 1.0×10^{-4} M 以上となった。また、MTX 投与開始後 24、48、72 時間の値はおおの 1.0×10^{-5} M、 1.0×10^{-6} M、 1.0×10^{-7} M 以下であった。

MTX 尿中濃度および尿 pH と単位時間の尿量は、1 クールで MTX 投与終了後 2 時間で尿中濃度が 1.6×10^{-2} M となり、その時の尿 pH は 6.7 まで低下し、尿量も減少した (図 6, 7)。2～4 クールでは、尿 pH は 7.2～7.6 で維持され、単位時間あたりの尿量も 100 ml 以上でほぼ安定しており、腎障害の所見は認められなかった (図 8, 9)。

尿中への MTX 排泄は、MTX 投与終了直前にほぼ peak となり、投与開始後 18 時間以降はほとんどみられなかった (図 10)。

臨床検査所見では、3 クール終了時に血小板が一時的に増加し、また、4 クール終了時には白血球が一過性の減少を示した (表 1)。

考 察

MTX は 1948 年に Farber ら¹⁾ が小児の白血病に用いて以来、抗悪性腫瘍剤として臨床的に広く用いられるようになった。また、近年になって CF-rescue 療法が開発

表 1 臨床検査所見

	MTX 投与前	1 クール 終了時	2 クール 終了時	3 クール 終了時	4 クール 終了時
白血球数 /mm ³	8,200	6,200	6,100	9,000	2,900
赤白血球数 ×10 ⁴ /mm ³	474	460	419	417	397
ヘモグロビン g/dl	14.2	13.0	12.4	12.1	11.7
ヘマトクリット %	41.1	38.8	37.5	36.1	35.3
血小板数 ×10 ³ /mm ³	185	276	289	455	222
GOT IU/l	14	14	17	15	11
GPT IU/l	6	3	17	9	3
ALP U	2.5	2.4	2.4	3.0	3.1
LDH IU/l	264	277	349	579	456
クレアチニン mg/dl	0.9	0.9	0.8	0.5	0.9
尿酸 mg/dl	3.5	3.4	5.0	2.1	2.6
尿素窒素 mg/dl	10.9	5.8	8.4	5.3	7.5

され、MTX 大量療法が著しい延命効果をもたらした。しかし、CF-rescue 療法を行っても 6% 程度の致死率が報告されており¹⁾、安全に投与するには、投与スケジュール、血中の MTX 濃度の monitoring、および排泄動態の把握が重要であると思われる。MTX の効果および毒性は血中の MTX 濃度と作用時間に規定されるが、投与時間が 30 時間をこえると投与量に関係なく、造血器や消化器への毒性が高度に発現するという報告もあり¹²⁾、最近では 6 時間点滴静注法が行われるようになってきた^{4,13)}。

今回の症例では、腫瘍の範囲が大きかったためにまず手術で腫瘍を切除し、その後に放射線および化学療法を行うことにした。しかし、術後の再発が早く、ADM および ⁶⁰Co 照射を併用したが効果がなく、また肺転移も認められたため、ただちに MTX 大量療法を行った。1 クール終了時には腫瘍の縮小傾向がみられたが、その後徐々に増大し、MTX 投与量を増量したが腫瘍は control できなかった。

骨肉腫の細胞は active transport 能を欠いているため、従来の低用量から中用量では MTX が骨肉腫の細胞に十分取り込まれない。そこで、MTX の血中 peak 値を 1.0×10^{-4} M 以上にし、MTX が passive transport で細胞内に移行させる必要がある^{14,15)}。そのためには少なくとも 150~200 mg/kg の MTX が必要とされているため¹⁵⁾、われわれは 200 mg/kg より投与を開始することにした。また、320 mg/kg (9,000 mg/m²) 以上の投与で副作用の発現率が高くなるという報告から⁶⁾、今回は最高投与量を 315 mg/kg とした。

われわれの行った MTX 投与計画 (図 3) は、阿部、石田らの High-dose-MTX-CF 療法の骨肉腫に対する臨床試験計画書⁹⁾を modify したもので、おもに CF の投与法および acetazolamide の使用量を変更した。すなわ

ち、原法では CF を MTX 投与終了後 27 時間までは静注で、その後は経口または筋注で行っているのに対し、われわれは投与を確実にするためにすべて静注で行った。また、acetazolamide は原法では 12 時間間隔で投与しているが、われわれは MTX 投与開始時より 60 時間までの間は 6 時間間隔で投与し、それ以後は 12 時間間隔として利尿をはかった。炭酸水素ナトリウム (Meylon®) については今回 7% を用い、輸液が変わるごとに 40 ml (32 mEq) を混滴とした。輸液は電解質バランスを考慮して、Hartman D、5% ブドウ糖液、Solita T3 を組み合わせで行ったことにより、電解質の特に K⁺ の control がスムーズに行えた。また、一般に MTX 療法では MTX の細胞内移行をより効果的にする目的で VCR の併用が行われるが¹⁶⁾、われわれは VCR の副作用¹⁷⁾、および MTX 大量療法では VCR を併用しなくとも MTX が passive transport で十分に細胞内に移行するということを考えて¹⁴⁾、VCR の併用を行わなかった。

MTX の測定法には、蛍光光度法¹⁸⁾、酵素法¹¹⁾、radioimmunoassay 法¹⁹⁾、高速液体クロマトグラフィー法^{20,21)}があり、高速液体クロマトグラフィー以外は近縁物質の共存で影響をうける。しかし、血中濃度 monitoring に用いる場合、測定結果によってはすぐに対処しなければならない場合があるので、測定には迅速性が必要となる。このため、交叉反応の影響は多少うけるが、ただちに結果が得られ、かつ操作の簡便さから、われわれは MTX キットを用いた酵素法で測定することにした。本法は MTX によって阻害される DHFR の残余活性を測定することにより MTX 濃度を求める方法であり、したがって DHFR の作用を阻害する物質や補酵素の NADPH を消費する物質などが測定値に影響を及ぼすことが考えられる。MTX 代謝物としては、7-hydroxy-Methotrexate (以下 7-OH-MTX と略す)、4-amino-4-

deoxy-N¹⁰-methylpteroic acid (以下 APA と略す), MTX polyglutamates (以下 MTX Gn と略す) が知られているが、血清および尿中では APA および MTX Gn は少なく、MTX の代謝物としては 7-OH-MTX が最も多く検出されるといわれている²³⁾。しかし、7-OH-MTX の DHFR 阻害作用は、MTX の 1/300 以下であることより²³⁾、本測定法で臨床的に十分に活用できるものと考えられる。

MTX の溶解度は、pH 6.7 で $1.1 \times 10^{-2} M$ 、pH 6.9 で $2.2 \times 10^{-2} M$ と pH の変化による影響を受けやすく、1 クールでは MTX 終了時および終了 2 時間後の尿 pH、尿中濃度より、MTX が腎の尿細管で結晶化し、尿細管の閉塞が生じたためと判断した。そこで尿のアルカリ化をはかるために 7% Meylon® 20 ml (16 mEq) を管注し、さらに点滴中にも 20 ml 追加して投与したところ、尿 pH は 7.0 以上に control され尿量も徐々に増加した。この 1 クールの経験に基づき、2 クールからは図 3 に示すようにプロトコルをさらに modify した。すなわち、pre-hydration の最後に Meylon® を 2 筒加え、post-hydration の最初に Meylon® を 1 筒加え 3 筒にしたところ、図 8、9 に示すように尿 pH は 7.0 以上に維持され、尿量および尿中濃度は control された。以上のことより、MTX の溶解度を考慮し、尿 pH を 7.0 以上に維持することの重要性が示唆された。しかし、過度のアルカリ化はアルカローシスを併発する可能性もあるので、臨床症状、動脈血 pH およびガス分圧の check も必要とされる。なお、今回の症例に関しては、動脈血の pH およびガス分圧はいずれも正常範囲内に維持された。

MTX 血清中濃度は図 5 のように 2 相性の減少を示し、Stoller ら²⁴⁾の報告と一致していた。さらに、その peak 値はいずれも $1.0 \times 10^{-4} M$ 以上となり、MTX が passive transport で骨肉腫の細胞内に十分移行したことが推察された。また、利尿により、MTX 投与後、24、48、72 時間のおのおの血清中濃度が、いわゆる危険濃度^{25, 26)}より低く control できたために、CF の massive rescue を施行しなくとも重篤な副作用の発現はみられなかった。

MTX 大量療法の副作用には、骨髄障害、肝障害、消化器障害、中枢神経障害¹³⁾が報告されている。今回の症例では嘔吐以外の副作用はほとんどなく、嘔吐も MTX 投与終了時より生じ 6 時間前後持続したが、その後は消失した。臨床検査所見では表 1 に示すように、4 クール終了時に白血球数が低下しているが、これは一過性のもので、MTX 投与終了後 2～3 日で回復した。なお、この際に血小板などほかの血液成分には異常が認められなかったため、骨髄障害はなかったものと思われる。

以上の結果より、MTX 大量療法を行うにあたって、血清中濃度、尿 pH、尿量を常に monitoring した結果、

MTX 投与開始後 18 時間、特に投与終了前後の管理が重要と思われた。また、今回われわれは、臨床試験計画書⁹⁾を modify し、Meylon® の増量および acetazolamide の投与延長により尿のアルカリ化を図ったところ、300 mg/kg 以上の MTX 大量療法に対しても安全に投与できた。

結 語

22 歳、男性の左側顎関節部に発生した骨原性肉腫の再発症例に対して、血清中濃度、排泄動態を monitoring しながら MTX 大量療法を施行し、下記の結果を得た。

- 1) 血清中濃度は 2 相性の減少を示し、その peak 値は $1.0 \times 10^{-4} M$ 以上になった。
- 2) MTX 投与開始後 24、48、72 時間の血清中濃度は、おのおのの危険濃度より低く control できた。
- 3) MTX 投与終了後から数時間にわたって尿中濃度は高値を示し、尿 pH が低下し、尿量も減少した。
- 4) MTX の尿中排泄は投与 18 時間前後でほとんど終了した。
- 5) 臨床的副作用として嘔吐以外特に認められなかった。

MTX 大量療法を施行する際に、血中濃度、尿 pH、尿量などを常に check し、それらの異常にすみやかに対処すれば安全に投与できると思われた。

本論文の要旨は、第 4 回歯科薬物療法研究会 (於、横須賀) で発表した。

引 用 文 献

- 1) Farber, S., Diamond, L.K., et al.: Temporary remission in acute leukemia in childhood produced by folic acid antagonist, 4 aminopteroylglutamic acid (aminopterin). *N Engl J Med* 238: 787-793 1948.
- 2) Von Hoff, D.D., Penta, J.S., et al.: Incidence of drug-related death, secondary to high-dose methotrexate and citrovorum factor administration. *Cancer Treat Rep* 61: 745-748 1977.
- 3) Goldin, A., Mantel, N., et al.: Estimation of the antileukemic potency of the antimetabolite aminopterin, administered alone and in combination with citrovorum factor or folic acid. *Cancer Res* 13: 843-850 1953.
- 4) Jaffe, N., Farber, S., et al.: Favorable response of metastatic osteosarcoma to pulse high-dose methotrexate with citrovorum rescue and radiation-therapy. *Cancer* 31: 1367-1373 1973.
- 5) Isacoff, W.H., Ellber, F., et al.: Phase II clinical trial with high-dose methotrexate ther-

- apy and citrovorum factor rescue. *Cancer Treat Rep* 62: 1295-1304 1978.
- 6) 佐々木邦明, 藤本孟男: Methotrexate 超大量-CF rescue 療法-MTX-pharmacokinetics, および排泄動態と安全投与の条件, *日癌治* 14: 988-996 1979.
 - 7) Jaffe, N., 古屋光太郎, 他: 骨肉腫に対する High-Dose Methotrexate with C.F. Rescue 療法について, *臨整外* 18: 935-940 1983.
 - 8) Hansen, H.H., Selawry, O.S., et al.: The variability of individual tolerance to methotrexate in cancer patients. *By J Cancer* 25: 298-395 1971.
 - 9) 日本整形外科学会, 骨・軟部腫瘍委員会編: 整形外科・病理, 悪性骨腫瘍, 第1版, 金原出版, 東京, 1982, 69-80頁.
 - 10) 川口智義: 骨・軟部肉腫——私の治療, *治療* 65: 935-940 1983.
 - 11) Wang, Y., Lantin, E., et al.: Methotrexate in blood, Urine, and cerebrospinal fluid of children receiving high doses by infusion. *Clin Chem* 22: 1053-1056 1976.
 - 12) Goldie, J.H., Price, L.A., et al.: Methotrexate toxicity; Correlation with duration of administration, plasma levels, dose and excretion pattern, *Europ J Cancer* 8: 409-414 1972.
 - 13) 遠藤富士乗, 高田典彦: われわれの行っている Methotrexate 大量療法について (第1報), *関東整災誌* 9: 277-282 1978.
 - 14) Goldman, I.D.: Membrane transport of methotrexate and other folate compounds: Relevance to rescue protocols. *Cancer Chemother Rep Part 3* 6: 62-72 1975.
 - 15) 佐々木邦明, 藤本孟男: メトトレキサートの臨床薬理動態に基づく大量療法と適正ロイコポリン救済療法, *TDM* 3: 25-29 1984.
 - 16) Goldman, I.D., Gupta, V., et al.: Exchangeable intercellular methotrexate level in the presence and absence of vincristine at extracellular drug concentration relevant to those achieved in high-dose methotrexate-folinic acid "rescue". *Cancer Res* 36: 276-279 1976.
 - 17) 三比和美, 服部理男: 悪性リンパ腫に対するメソトレキサート超大量療法の治療成績について, *癌と化学療法* 9: 1068-1073 1982.
 - 18) Kinkade, J.M., Vogler, W.R., et al.: Plasma levels of methotrexate in cancer patients as studied by an improved spectrophotofluorometric method. *Biochem Med* 10: 337-350 1974.
 - 19) Hendel, J., Sarek, L.J., et al.: Rapid radioimmunoassay for methotrexate in biological fluids. *Clin Chem* 22: 813-816 1976.
 - 20) Canfell, C., Sadee, W., et al.: Methotrexate and 7-hydroxymethotrexate: Serum level monitoring by high-performance liquid chromatography. *Cancer Treat Rep* 64: 165-169 1980.
 - 21) 細谷亮太, 佐々木邦明: Methotrexate 大量-CF rescue 療法の研究, 高速液体クロマトグラフィーによる methotrexate およびその代謝産物の測定と臨床的意義, *癌と化学療法* 8: 1325-1334 1981.
 - 22) 佐々木邦明, 細谷亮太, 他: Methotrexate 代謝物 (7-Hydroxy methotrexate) の組織内 pharmacokinetics に関する実験的研究, *癌と化学療法* 9: 1678-1687 1982.
 - 23) Breithaupt, H., Küenzlen, E., et al.: Rapid high-pressure liquid chromatographic determination of methotrexate and its metabolites 7-hydroxymethotrexate and 2,4-diamino-N¹⁰-methylptericoic acid in biological fluids. *Analytical Biochemistry* 121: 103-113 1982.
 - 24) Stoller, R.G., Jacobs, S.A., et al.: Pharmacokinetics of high-dose Methotrexate. *Cancer Chemotherapy Rep* 6: 19-24 1975.
 - 25) Nirenberg, A., Mosende, A., et al.: High-dose methotrexate with citrovorum factor rescue: predictive value of serum methotrexate concentrations and corrective measures to avert toxicity. *Cancer Treat Rep* 61: 779-783 1977.
 - 26) Isacoff, W.H., Morrison, P.F., et al.: Pharmacokinetics of high-dose methotrexate with citrovorum factor rescue. *Cancer Treat Rep* 61: 1665-1674 1977.