薬学雑誌
YAKUGAKU ZASSHI
109 (11) 865-868 (1989)

マウス白血病 L1210 細胞における Etoposide と Cytosine Arabinoside 併用での 投与スケジュールと抗腫瘍効果との関係

大井一弥,^{*,a} 大久保俊樹,^b 川崎 肇,^b 櫻井 實^b
社会保険羽津病院薬剤部,^a 三重大学小児科学教室^b

Studies on the Relationship between Therapeutic Schedule and Antitumor Effect of Etoposide and Cytosine Arabinoside in Murine L1210 Leukemia

Kazuya Ooi,^{*,a} Toshiki OHKUBO,^b Hajime KAWASAKI,^b
and Minoru SAKURAI^b

Department of Pharmacy, Social Insurance Hazu Hospital,^a 10-8 Hazuyama-cho,
Yotsukaichi, 510, Japan and Department of Pediatrics, Mie University,
School of Medicine,^b 2-174 Edobashi, Tsu, 514, Japan

(Received May 18, 1989)

The sequence dependency of the antitumor effect of etoposide and ara-C was investigated against the L1210 ascites tumor in BDF1 mice. Etoposide (7.5 mg/kg or 15 mg/kg) and ara-C (25 mg/kg or 500 mg/kg) were administered intraperitoneally on days 1, 4 and 7 after inoculation of L1210 with or without time interval of 3 or 6 h. Antitumor effect was decided for cure rate and post inoculation survival time of the mice died of tumor. Six hours pretreatment with 15 mg/kg of etoposide followed by 500 mg/kg of ara-C yielded 100% of cure rate, but only 20% of cure rate was obtained with the reverse sequence. Simultaneous administration of etoposide and ara-C produced 70% of cure rate. At every dosage examined, pretreatment with etoposide given 6 h before ara-C was the most effective antitumor schedule in L1210 leukemia.

Keywords—sequential therapy; etoposide; cytosine arabinoside; drug interaction; L1210 leukemia

緒 言

近年、腫瘍細胞に選択的に働く新しい抗腫瘍薬の合成開発が試みられる一方で、現今の抗腫瘍薬を併用して抗腫瘍活性を高める試みも数多い。4'-Demethylepipodophyllotoxin 9-[4,6-O-ethylidene-β-D-glucopyranoside] (VP-16, etoposide) 及び 1-β-D-arabinofuranosyl cytosine (cytosine arabinoside, ara-C) との併用は、白血病の臨床試験において優れた治療報告がなされているが,^{1,2)} 動物実験では、両薬剤の抗腫瘍効果は、投与スケジュールにより相乗的又は拮抗的であるとする報告がある。^{3,4)} Etoposide は topoisomerase II 阻害を介した間接的 deoxyribonucleic acid (DNA) 鎖の切断を引き起こし、抗腫瘍効果を発揮すると考えられている。この作用は、細胞増殖期に有効であり、また、etoposide がヌクレオシドの細胞膜輸送を抑制することも知られている。⁵⁻¹⁰⁾ 一方 ara-C は、deoxy cytidine 類似体で、cell cycle の S 期に特異的に DNA polymerase を阻害するもの¹²⁻¹⁵⁾ であり White らは、患者由来ヒト白血病細胞で、etoposide が ara-C の膜輸送と細胞内蓄積を抑制することを報告している。¹¹⁾ 以上の報告は、etoposide と ara-C の抗腫瘍効果が投与スケジュールに依存的である可能性を示唆するものであり、しかもこの両薬剤の併用療法については、同時投与以外での実験報告はない。そこで我々は、L1210 担癌 BDF1 マウスを用いて、etoposide と ara-C 併用療法における抗腫瘍効果と薬剤投与スケジュールとの関係を検討したので報告する。

材料及び実験方法

細胞 L1210 細胞は、塩野義製薬研究所 (大阪) より供与を受け、三重大学動物センターにて、BDF1 マウス

Fig. 1. Effect of Timing of Administration of Etoposide in Relationship to ara-C on Cure Rate and Survival Time of Mice

(A) Etoposide 15 mg/kg, ara-C 500 mg/kg. (B) Etoposide 7.5 mg/kg, ara-C 500 mg/kg. (C) Etoposide 15 mg/kg, ara-C 25 mg/kg. (D) Etoposide 7.5 mg/kg, ara-C 25 mg/kg.

の腹腔内移植により継代したものをを用いた。

動物 L1210 細胞 1×10^6 個を腹腔内移植したオスの BDF1 マウス (体重 20—22 g) をを用いた。

薬物 Etoposide は Bristol Myers 株式会社, ara-C は日本新薬株式会社より供与を受けたものをを用いた。

薬物投与方法 L1210 細胞移植後, 1, 4, 7 日目に, etoposide, ara-C を単剤又は結果で述べる併用時間差投与スケジュールに従い腹腔内投与した。またコントロール群にも生理食塩水 0.2 ml を同様のスケジュールで腹腔内投与した。

薬物投与量 本実験系では, 薬物投与量を etoposide 7.5, 15 mg/kg, ara-C 25, 500 mg/kg と設定した。これは, 抗腫瘍効果からみた至適投与量が etoposide 単剤で 18 mg/kg, ara-C 単剤で 1200 mg/kg とする Rivera らの報告¹⁶⁾に基づいたものである。

抗腫瘍効果の評価 腫瘍細胞移植後の生存期間と治癒率により行い, 腫瘍細胞移植後 120 日以上生存を治癒とみなした。生存期間, 治癒率はそれぞれ *t* 検定, カイ 2 乗検定により有意差検定を行った。また移植後 0 及び 7 日目にマウスの体重を測定し体重の変化を急性毒性の評価とした。

結 果

L1210 細胞を移植したコントロール群の生存期間は 7.2 日であった。Etoposide と ara-C 共に投与量に依存して生存日数が伸びたが, 単剤投与群での治癒は得られなかった。併用群は, (A) etoposide 15 mg/kg, ara-C 500 mg/kg (B) etoposide 7.5 mg/kg, ara-C 500 mg/kg (C) etoposide 15 mg/kg, ara-C 25 mg/kg (D) etoposide 7.5 mg/kg, ara-C 25 mg/kg の 4 群 (Fig. 1, A—D) を設定し検討した。その結果, 各々の投与群において, etoposide の 6 時間先行投与が最良の治療成績を示した。すなわち (A) (B) 群での etoposide 6 時間先行投与の治癒率はそれぞれ 100%, 90% で, 同時投与はそれぞれ 70%, 60% であり, 逆に ara-C 6 時間先行投与群での治癒率は, 20%, 30% となり明らかな reverse sequence 現象を示した。(C) (D) 群でもやはり etoposide 6 時間先行投与で最良の成績を得たが, 同時投与及び ara-C 先行投与では前述の, (A) (B) 群と異なる結果を得た。すなわち (A) (B) 群では, 同時投与における治癒率が各々 70%, 60% で, 単剤投与の治癒率 0% に比して, 著しく抗腫瘍効果が増強したが (C) (D) 群では 0% であり, 両薬剤の併用効果はみられない結果となった。また (C) (D) 群では ara-C 6 時間先行投与時の治癒率は各々 70%, 20% であり, 同時投与群よりも有意に上昇した。各群でのマウスの平均体重増加は, 0.04—1.04 g であり, 投与スケジュールや抗腫瘍効果との間に有意な関係は認められなかった。

考 察

以上の研究結果は, etoposide-ara-C 併用療法における薬剤投与スケジュールと抗腫瘍効果との関係を, L1210 担癌マウスを用いて検討したものである。両薬剤の抗腫瘍効果は, 投与スケジュール依存的かつ投与量依存的であり, 今回検討したすべての投与群の組合せにおいて, etoposide 6 時間先行投与が最良の治療成績をあげた。Etoposide と ara-C 500 mg/kg 同時投与では, etoposide の抗腫瘍効果増強が認められたが, ara-C 25 mg/kg 投与では, etoposide 単剤投与との違いは認められなかった。この現象は White らが報告しているように,¹¹⁾ etoposide による可逆的かつ ara-C 濃度依存的な ara-C の膜輸送の抑制が原因と考えられる。Fietkau らによると, 腹水系 L1210 細胞において ara-C 200 mg/kg の腹腔内投与は, DNA 合成を投与後, 1 時間から 8 時間ほぼ完全に停止させ, 細胞回転では, G1 期細胞を G1—S 期に停滞させるという。¹⁷⁾ 一方 ara-C 25 mg/kg による DNA 合成抑制はより弱く短時間で回復するが, この期間は, 前述のごとく etoposide に感受性が低い可能性があり, この事が, ara-C 500 mg/kg の先行投与群で治療成績が悪く, ara-C 25 mg/kg 6 時間先行投与ではより治療成績がよいことを説明できるものと考えられる。また著者らのアルカリシ 糖密度勾配法による実験では, etoposide 投与後, 3—6 時間では, etoposide による DNA 鎖切断作用の修復過程であり, 本実験の結果より, 3—6 時間の間に, 細胞の ara-C に対する感受性が高まることが推察された。¹⁸⁾

謝辞 本研究の論文作成に当り, 御校閲をいただきました城西大学薬学部 倉田宗司教授に深謝いたします。

引 用 文 献

- 1) G. Rivera, T. Avery, C. Pratt, *Cancer Chemother. Rep.*, **59**, 743 (1975).

- 2) C. Sauter, J. Fehr, P. Frick, J. Gmuer, H. Honegger, G. Martz, *Eur. J. Cancer Clin. Oncol.*, **18**, 733 (1982).
- 3) G. Rivera, T. Avery, D. Roberts, *Eur. J. Cancer*, **11**, 639 (1975).
- 4) P. Dombernowsky, N. I. Nissen, *Eur. J. Cancer*, **12**, 181 (1976).
- 5) J. D. Loike, S. B. Horwitz, *Biochemistry*, **15**, 5443 (1976).
- 6) A. J. Wozniak, W. E. Ross, *Cancer Res.*, **43**, 120 (1983).
- 7) G. L. Chen, L. Yang, T. C. Rowe, B. D. Halligan, K. M. Tewey, L. F. Liu, *J. Bio. Chem.*, **259**, 13560 (1984).
- 8) B. H. Long, S. T. Musial, M. G. Brattain, *Biochemistry*, **23**, 1183 (1984).
- 9) W. Ross, T. Rowe, B. Glisson, J. Yalowich, L. Liu, *Cancer Res.*, **44**, 5857 (1984).
- 10) J. Markovits, Y. Pommier, D. Kerrigan, J. M. Covey, E. J. Tilchen, K. W. Kohn, *Cancer Res.*, **47**, 2050 (1987).
- 11) J. C. White, L. H. Hines, J. P. Rathmell, *Cancer Res.*, **45**, 3070 (1985).
- 12) S. S. Cohen, *Cancer (Phila)*, **40**, 509 (1977).
- 13) M. Karon, S. Shirakawa, *Cancer Res.*, **29**, 687 (1969).
- 14) F. L. Graham, G. F. Whitmore, *Cancer Res.*, **30**, 2627 (1970).
- 15) D. W. Kufe, P. P. Major, E. M. Egan, G. P. Beardsley, *J. Biol. Chem.*, **255**, 8997 (1980).
- 16) R. Gaston, A. Thomas, R. Dewayne, *Eur. J. Cancer*, **2**, 639 (1975).
- 17) R. Fietkau, H. Friede, B. Maurer-Schultze, *Cancer Res.*, **44**, 1105 (1984).
- 18) T. Ohkubo, H. Hori, M. Higashikawa, H. Kawasaki, H. Kamiya, M. Sakurai, E. Kakitou, Y. Kagawa, K. Sumita, K. Ooi, Abstracts of papers, 5th Purine and Pyrimidine Metabolism in Man, Hakone, July, 1988, in press.