

# 抗悪性腫瘍薬の適正使用に関する研究

内山 将伸

福岡大学病院薬剤部, 〒814-0180福岡市城南区七隈七丁目45-1

## Studies for the appropriate use of anti-cancer drugs

Masanobu Uchiyama

Department of Pharmacy, Fukuoka University Hospital 7-45-1, Nanakuma, Jonan-ku,  
Fukuoka 814-0180, Japan

### Abstract

In Japan, cancer has been the number one cause of death since 1981, and at present, one in three people die of cancer. In order to perform efficient medical treatment like individualized medicine, various researches become important that anti-cancer drugs with narrow therapeutic window which are used for effectively and appropriately. The present report introduces the three basic approach and clinical study.

#### 1. Simple and sensitive HPLC method for the fluorometric determination of methotrexate and its major metabolites in human plasma by post-column photochemical reaction

The present method using an on-line photochemical reaction irradiating at 245nm significantly improved the simplicity and sensitivity of this protocol. This method was successfully used to determine the MTX and 7-OH-MTX levels in plasma obtained from a patient on MTX therapy. Therefore, the method can be applied for routine use in clinical investigation.

#### 2. Interferon- $\alpha$ (IFN) and zidovudine (AZT) for relapsed/refractory adult T cell leukemia/lymphoma: Investigation of AZT optimal blood concentration

This is the first Japanese report of IFN/AZT for ATL. The plasma concentration of AZT is determined by high-performance liquid chromatography (HPLC) and pharmacokinetics parameter, which is comparable to previous reports on patients with human immunodeficiency virus infection not receiving IFN. This report would contribute for developing future ATL treatment in Japan.

#### 3. Mechanism of cell death by arsenic trioxide, which used for Acute promyelocytic leukemia (APL)

Our results indicate that (1) although GSH is increased in NRK52E by the addition of As and Cd, mitochondria-mediated apoptosis can be still induced, (2) the protective property against metal-induced cytotoxicity is identical in As-2.5R and Cd-10R cultures, and (3) although GSH was higher in the metal-tolerant cell lines, depression of GSH by BSO induced apoptosis. We conclude that As- and Cd-induced apoptosis is mediated by an identical mechanism involving intracellular GSH reactive oxidation.

**Keyword:** anti-cancer drugs, methotrexate, zidovudine, arsenic, appropriate use, high-performance liquid chromatography

## 諸論

1981年よりがんが死因の第1位となり、現在では3人に1人ががんで亡くなる深刻な時代となっている。がん治療は、その種類や進行度によっても異なるが、主に手術療法、放射線療法、化学療法などの複雑で高度な技能と知識を必要とする様々な治療法の組み合わせによる集学的治療によって行われている。一般に、がん化学療法のひとつに cytotoxic drug である抗がん剤の使用が含まれており、抗悪性腫瘍薬の中でもその特性を最も理解しておかねばならない。がん細胞の高い分裂能を利用して殺細胞的に作用する抗がん剤の特性は、がん細胞のみならず分裂が盛んな正常細胞、とりわけ骨髄細胞や消化管上皮細胞などに対しても作用し、がん細胞に対する特異性が必ずしも高くはない。抗がん剤は一般薬剤と比較して、治療係数が小さく、有効治療濃度域が狭いため、副作用が最大耐用量を決定する因子となる場合が多い。よって、有効性、安全性の両面から見た薬物治療の個別化が必要となる。臨床では薬剤、腫瘍、宿主の関係(図1)を俯瞰しておく必要がある。がん化学療法では、この3者のバランスを考慮して進めなければならない。抗腫瘍作用だけでなく、しばしば臨床でも問題となる薬剤耐性や副作用についても薬物動態や遺伝子等も考慮しなければならない。医療現場では多くの問題を抱えながら、がん化学療法を行っているのが現状であり、抗悪性腫瘍薬を適切に効果的に使用するためには臨床に即した多方面からの基礎的研究が望まれている。今回、以下に示す3つの研究成果を報告する。

- ① メトトレキサートとその代謝物の迅速で簡便な高感度測定法の開発とその適用
- ② 成人T細胞白血病/リンパ腫患者に対する zidovudine (AZT) + interferon- $\alpha$  併用療法における血漿中AZT濃度の検討
- ③ 急性前骨髄球性白血病に適応を有する亜ヒ酸の詳細な作用機序の解明

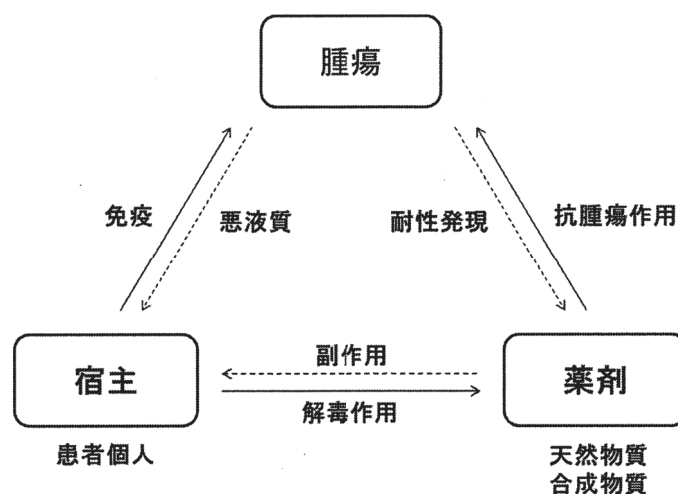


図1. 薬剤、腫瘍、宿主の関係

### 1. メトトレキサートとその代謝物の迅速で簡便な高感度測定法の開発とその適用

メトトレキサート (MTX) は dihydrofolate を核酸合成に必要な tetrahydrofolate に還元させる dihydrofolate reductase (DHFR) の働きを阻止し、チミジル酸合成およびプリン合成系を阻害する抗悪性腫瘍薬であり、種々の血液がんや固形がんの治療に幅広く臨床効果が認められている<sup>1</sup>。MTX・ホリナー トカルシウム (CF) 救援療法のような大量療法を実施するがん治療では臨床効果が著しい反面、骨髄抑制や腎機能障害、消化器粘膜障害 (下痢・激しい口内炎) などの重篤な副作用が報告されている<sup>2</sup>。そのため、副作用発現防止のために MTX の危険濃度域が設定され、特に MTX 投与48時間後の血漿中濃度は

副作用モニターの観点から重要な指標となっている。MTXの主たる代謝物は7-hydroxymethotrexate (7-OH-MTX) と2,4-diamino-N<sup>10</sup>-methylpteroic acid (DAMPA) である。7-OH-MTXは血漿・尿中に最も多く検出される代謝物であり、DHFR阻害作用はMTXの1/100と弱いものの<sup>3</sup>、蛋白結合率は90%以上と高い。また、投与12時間以後の血漿中濃度はMTXよりも高く、水に対する溶解度がMTXに比べ3～5倍低いいため尿細管で析出しやすく<sup>4</sup>、大量投与時の腎毒性の要因の一つである<sup>5,6</sup>。DAMPAはDHFR阻害作用がMTXの1/200と弱いものの<sup>7</sup>、水に対する溶解度が約10倍低いいため7-OH-MTXと同様に尿細管で析出しやすく、持続的に血漿中濃度が高くなると腎毒性が引き起こされる<sup>8</sup>。現在、臨床の間では全自動蛍光偏光免疫測定装置 (TDx) が汎用されている。

しかし、免疫学的測定法では代謝物 (7-OH-MTX, DAMPA) との交差反応により正確性に問題がある<sup>9,10</sup>。さらに、測定装置および試薬が高価である。代謝物との同時定量が可能なHPLCによる測定法は多く報告されている<sup>11,12</sup>が、これらの方法は以下の問題点がある。①固層抽出が必要である、②複雑な前処理により測定に時間がかかる、③感度に問題がある、そのため実臨床では利用しにくい。

本法は、MTXと代謝物に245nmの紫外線を照射することによってC-N結合を切断し、発蛍光物質となる性質 (光分解反応, 図2) を利用したHPLC蛍光測定法を用いて、血漿中MTXと代謝物の迅速で簡便な高感度測定法を開発し、患者検体を用い測定を実施した。

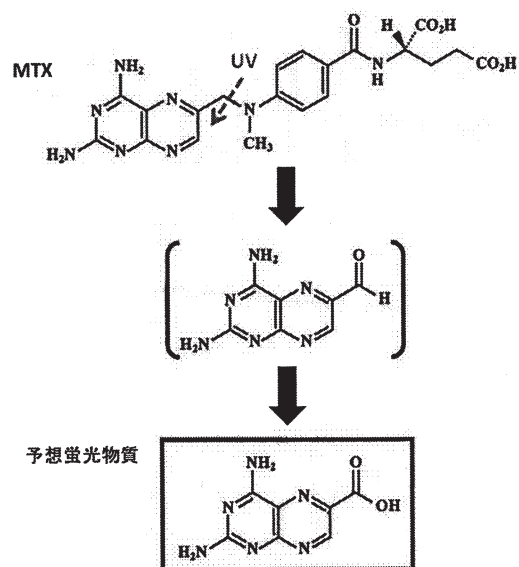


図2. 光分解反応

#### 【測定条件】

HPLC分析装置には日立L-7120ポンプおよび日立L-7485蛍光検出器を用いた。分析カラムにはCapcell Pak C<sub>18</sub> UG120 (5 μm, 10 mm × 4.0 mm i.d.), ガードカラムにはCapcell Pak C<sub>18</sub> UG120 (5 μm, 10 mm × 4.0 mm i.d.) を使用した。光分解にはPHRED<sup>®</sup> (245 nm, 15 W), PTFE knitted capillary coil (3 m × 0.5 mm i.d.) を用いた。移動相は50 mMリン酸緩衝液 (pH 5.3):アセトニトリル (90:10, v/v) を0.5 mL/minで送液し、検出波長はEx 368 nm, Em 452 nmで分析を行った。内標準物質として2,4-diaminopteroic acid (IS) を用い、MTX, 7-OH-MTXおよびDAMPA濃度はISに対するピーク面積比から求めた。

#### 【基本操作】

血漿100 μLにIS溶液40 μLを添加し、これに5%トリクロロ酢酸含有5%アセトニトリル溶液200 μLを加えてvortex-mixerで攪拌した。遠心分離 (13000 rpm, 5分) し、上澄み300 μLに2 M NaOH 17 μLを加えvortex-mixerで攪拌し、HPLCに10 μL注入した。

#### 【結果】

本法は紫外線照射をしない場合は何らピークが検出されず、紫外線を照射することにより、いずれも単一ピークを与えた。血漿ブランクとMTX (1 nmol/mL) および7-OH-MTX (0.1 nmol/mL), DAMPA (1 nmol/mL), IS (1 nmol/mL) 添加血漿を基本操作に基づきHPLCに注入して得られたクロマトグラムを図3に示す。MTX, 7-OH-MTX, DAMPAおよびISの保持時間 (RT) はそれぞれ15.9分, 22.2分,

54.7分, 19.9分であった。血漿による妨害ピークは12分以降では観測されず, 患者血中の測定法としての可能性を示唆した。さらに, MTX大量療法で使用されるCFや食事由来成分として存在する葉酸のRTはそれぞれ6.3分, 6.6分であり, 分離可能であった。

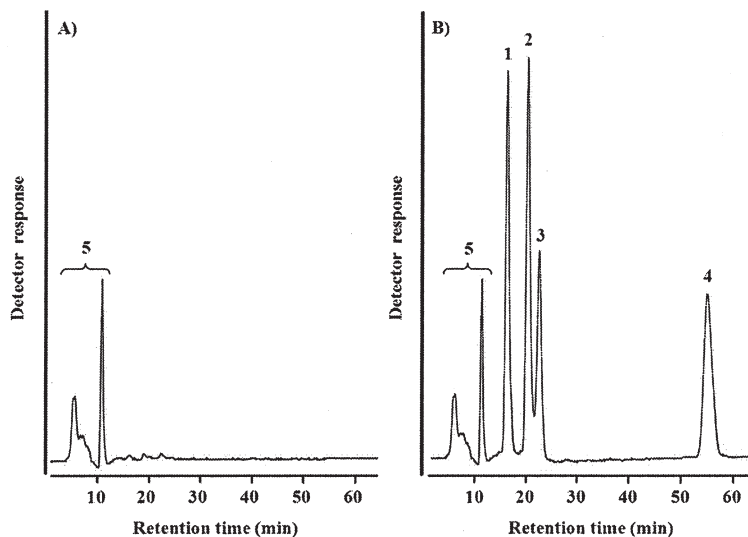


図3. MTXと代謝物添加血漿のクロマトグラム  
(Peaks : 1. MTX, 2. IS, 3. 7-OHMTX, 4. DAMPA, 5. unknown)

【MTX大量療法患者への適用】

症例は65歳男性でびまん性大細胞型B細胞リンパ腫の診断でMTX大量療法が実施された。MTXは3000 mg/m<sup>2</sup>を2時間で点滴し, 採血は24, 48, 96時間後に実施され, 本法およびTDxによる測定を行った。表1にMTXと代謝物の患者血漿中濃度の推移を示す。

表1. MTXと代謝物の患者血漿中濃度の推移

		Concentration (nmol/mL)	
		HPLC	FPIA <sup>1)</sup>
MTX	24 h	4.28	4.23
	48 h	0.34	0.37
	96 h	0.07	0.12
7-OHMTX	24 h	19.34	
	48 h	7.26	
	96 h	1.38	
DAMPA	24 h	ND <sup>2)</sup>	
	48 h	ND <sup>2)</sup>	
	96 h	ND <sup>2)</sup>	

1) FPIA : fluorescence polarization immunoassay, 2) ND : not detected

## 【考察】

本法は紫外線照射による光分解反応を利用したMTX, 7-OH-MTXおよびDAMPAの迅速で簡便な高感度HPLC蛍光測定法である。

現在までに報告されているHPLCによる測定法は固相抽出などの複雑な前処理を必要としていたが, 5% TCA含有5% CH<sub>3</sub>CN溶液による除タンパク操作のみで簡便で迅速な抽出が可能であり, 良好な分離を示した。また, MTX大量療法で使用されるCFや食事由来成分として存在する葉酸との分離も可能であった。

本法におけるMTX, 7-OH-MTXおよびDAMPAの定量限界(S/N比=3)はMTXが5 pmol (2.3 ng) / mL, 7-OH-MTXが0.8 pmol (0.38 ng) / mL, DAMPAが10 pmol (3.4 ng) / mLであった。McCruddenら<sup>11</sup>やLuら<sup>12</sup>の報告と比較しても, on-columnで11 pg/on-columnとそれぞれ2.2倍と23倍と高感度であった。また, 10 pmol~20 nmol/mLの範囲でMTX, 7-OH-MTXおよびDAMPAは良好な直線性を示し, 日内変動で5.5%以下, 日間変動で6.3%以下と高精度な測定が可能であった。

MTX大量療法患者に適用し, 血漿中MTXと7-OH-MTX濃度の測定が可能であり, 妨害するpeakは観察されず, 臨床応用が可能であることが確認された。しかし, DAMPAは検出されなかった。このことは, 成人患者においてDAMPAへ代謝する酵素であるcarboxypeptidase G2の発現が低いこと<sup>13</sup>が影響しているものと考えた。

これらのことより, 本法はMTX, 7-OH-MTXおよびDAMPAの日常分析法として極めて有用であり, 前処理の簡便性と高感度かつ高精度な測定が可能なことから, 医療現場でも十分に有用であると思われる。

## 2. 成人T細胞白血病／リンパ腫患者に対するzidovudine (AZT) + interferon- $\alpha$ 併用療法における血漿中AZT濃度の検討

成人T細胞白血病／リンパ腫(ATL)は, ヒトT細胞白血病ウイルスI型が原因となり, 予後が極めて不良な疾病である。未治療急性型・リンパ腫型・予後不良因子を持つ慢性型ATL患者を対象とした本邦での代表的な治療研究であるJCOG9303 (LSG15療法)では, これまでの報告と比較すると極めて良好な治療成績をあげたが, 完全寛解率35.5%, 50%生存期間13ヶ月, 2年生存率31%と未治療例であっても満足できる状況ではない<sup>14</sup>。そのため, ATLに対する新規治療法の開発は急務である。Zidovudine (AZT) + interferon- $\alpha$ 併用療法(AZT-IFN $\alpha$ 療法)は欧米で報告され<sup>15,16</sup>, 再発・治療抵抗性例が含まれているにもかかわらず, 本邦での未治療例のみを対象にしたLSG15療法に匹敵する治療成績が得られている。しかしながら, AZTに関する血漿中濃度測定報告はヒト免疫不全ウイルス(HIV)感染症に対するものはあるものの<sup>17</sup>, ATLに対する報告はない。今回, ATLに対するAZT-IFN $\alpha$ 療法における血漿中AZT濃度検討のために患者血漿中濃度測定を行うこととした。

### 【投与方法・採血ポイント】

AZTはレトロビルカプセル®600 mgを1日3回に分けて連日経口投与した。IFN $\alpha$  (スミフェロンDS®) 300万単位を1日1回連日皮下投与で開始し, day 8から600万単位に増量した。採血は投与1日目および8日目の朝投与直前, 0.5, 1, 2, 3, 4時間後の計12ポイントで行った。

### 【測定条件】

Ramachandranら<sup>18</sup>の方法に従い, 高速液体クロマトグラフィー(HPLC)にて測定を行った。HPLC分析装置には日立L-7120ポンプおよび日立L-7405紫外・可視検出器を用いた。分析カラムにはJ

sphere ODS-H80 (4  $\mu\text{m}$ , 150 mm  $\times$  4.6 mm i.d.) を用い、ガードカラムとして YMC-ODS (3  $\mu\text{m}$ , 2.0 mm  $\times$  10 mm i.d.) を使用した。移動相は 15 mM リン酸緩衝液 (pH 7.5) : アセトニトリル (80:20, v/v) を 1.5 mL/min で送液し、検出波長 260 nm で分析を行った。内標準物質として 3-isobutyl-1-methylxanthine (IS) を用い、AZT 濃度は IS に対するピーク面積比から求めた。

#### 【基本操作】

血漿試料 250  $\mu\text{L}$  に 25  $\mu\text{L}$  の IS 溶液 (100  $\mu\text{g/mL}$ )、1 mL の酢酸エチルを添加し、vortex-mixer で攪拌した。遠心分離 (1000  $\times$  g, 10 分) 後、酢酸エチル層を 500  $\mu\text{L}$  分取し、50°C で減圧乾固した。残渣を移動層 50  $\mu\text{L}$  に再溶解し、20  $\mu\text{L}$  を HPLC に注入した。

#### 【薬物動態パラメータ】

WinNonlin により解析した 1 日目および 8 日目の患者 3 例の薬物動態パラメータを以下に示す。(表 2)

表 2. 患者 3 例の薬物動態パラメータ

-1日目-						
No	V (L/kg)	CL (L/hr/kg)	AUC 0-inf (hr $\cdot$ $\mu\text{g/mL}$ )	T1/2 (hr)	Tmax (hr)	Cmax ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	4.70	0.37	9.44	8.91	2.03	0.63
2	3.36	2.55	1.46	0.91	1.32	0.41
3	3.24	1.90	1.58	1.18	1.70	0.34
-8日目-						
No	V (L/kg)	CL (L/hr/kg)	AUC 0-inf (hr $\cdot$ $\mu\text{g/mL}$ )	T1/2 (hr)	Tmax (hr)	Cmax ( $\mu\text{g/mL}$ )
1	5.20	0.55	6.30	6.57	0.53	0.63
2	2.39	1.71	2.17	0.97	1.39	0.57
3	4.44	2.22	1.35	1.38	1.11	0.39

#### 【考察】

本研究は日本人の ATL 患者における AZT-IFN  $\alpha$  療法において、血漿中 AZT 濃度を初めて報告したものである。1 日目および 8 日目の患者 3 例の平均血漿中濃度の推移を比較し、AZT は蓄積を認めなかった。また、患者 3 例中 2 例の薬物動態パラメータは日本人での HIV 感染患者のパラメータ<sup>19)</sup> に類似した結果であった。しかし、1 名の患者で半減期が約 6~8 倍延長し、AUC が約 6~9 倍となっていた。たった 3 名の検討にも関わらず、著しい個体間変動を認めた。

ATL 患者は高齢者が多く、腎機能や肝機能が低下していることを考えると、今後、AZT-IFN  $\alpha$  療法の効果・副作用を評価する上で、AZT の PK/PD 解析を行う必要があると考えられた。

### 3. 急性前骨髄球性白血病に適応を有する亜ヒ酸の詳細な作用機序の解明

重金属はそれ自体に毒性があり、環境問題の原因の一つであり、化学発がんを引き起こすことが知られている。一方で、ヒ素 (As) やカドミウム (Cd)、水銀といった毒性金属がアポトーシスを誘導するこ

とが明らかになってきている<sup>20-22</sup>。Asはそれ自体の毒性はないが、その化合物、特に3価のもの(亜ヒ酸:  $As_2O_3$ )は毒性が強い。一方、中国では $As_2O_3$ が急性前骨髄球性白血病(AML)においてオールトランス型レチノイン酸(ATRA)と同等の寛解導入率を示すことが報告されている<sup>23</sup>。現在では、血液がんを始め、腎がんや肝がんなどでも研究が進められ、一部のがん腫ではPhase IIまで進んでいるものもある<sup>24,25</sup>。 $As_2O_3$ は本邦においてトリセノックス<sup>®</sup>として、再発または薬物抵抗性のあるAML患者へ認可されている。しかし、これまでの抗悪性腫瘍薬と同様、 $As_2O_3$ もその詳細な作用機構が解明されないまま臨床応用されている。

ラットにCdを吸入、注射、給餌により曝露すると、精巣、肺、前立腺、造血系ならびに皮下や筋肉内注射部位において発がんが認められている<sup>26-28</sup>。Waalkesらは食餌性CdによりLarge granular lymphocyte (LGL)白血病が投与量依存的に増加することを報告している<sup>29</sup>。一方、塩化Cdを皮下投与した場合、白血病自然発生率が顕著に減少した報告もある<sup>30</sup>。Cdは現在のところ、カスパーゼ-ミトコンドリア依存性経路とカルシウム-カルパイン依存性経路の両方によってアポトーシスを誘発すると考えられている。

現在までの研究から、AsおよびCdともに、その細胞死誘導のメカニズムはミトコンドリアを介するとされているものの、両者の細胞内での作用機序の違いは明らかになっていない。また、ATRAによるAMLの分化誘導療法は、90%前後の症例で完全寛解が得られている。一方、耐性も比較的容易に出現する。AsとCdの細胞内作用機序の違いについて解明することは、抗悪性腫瘍薬に対し薬剤耐性獲得後の白血病を含めたがん治療において、今までにない新たな治療法開発に繋がる可能性があると考えられる。また、腎がんや肝がんなど、抗がん剤の効果がほとんど期待できないがん腫での治療応用も考えられ、新たな治療法開発に繋がる可能性がある<sup>31,32</sup>。

## 【方法】

培養細胞はSV40由来のがん化したラットの尿細管上皮細胞(NRK52E)を用い、Asは三酸化ヒ素、Cdは塩化カドミウムを使用した。両金属の耐性細胞は長期間をかけ、各々の最大濃度で生存できる細胞のみを選択的に継続培養し、それぞれの最終濃度はAsが $2.5 \mu M$ (As-2.5R)、Cdが $10 \mu M$ (Cd-10R)のものを得た。AsとCdによる細胞死がミトコンドリアを介したアポトーシスであるかを、DNAの生化学的変化と核の形態学的観察、ミトコンドリア膜ポテンシャルの変化によって確認した。また、AsとCdによる細胞死への酸化・抗酸化の関与についても検討した。細胞内酸化は酸化フォスファチジルコリン(oxPC)の発現により確認した。フォスファチジルコリンは細胞膜を構成しているリン脂質の主要成分であり、特にミトコンドリア膜に豊富に存在している。一方、抗酸化は活性酸素種(ROS)の消去系として重要な還元物質のグルタチオン(GSH)の細胞内濃度とCdをはじめとする重金属により合成が誘導され、システイン残基が全体の約1/3を占め、フリーラジカル消去能も有している<sup>33</sup>メタロチオネイン(MT)の発現を検討した。さらに、GSH合成阻害剤であるL-buthionine-(S,R)-sulfoximine(BSO)添加によるアポトーシス誘導についても検討した。

## 【結果】

AsまたはCd添加48時間後に誘起される細胞死は、アポトーシスの生化学的特徴であるDNAのヌクレオソーム単位での断片化と形態学的特徴である核クロマチンの濃縮と核の小片化を認めた。Controlに比べ、AsとCd添加細胞ともに、ミトコンドリアの質量は変化しなかったものの、ミトコンドリア膜電位は低下していた。一方、両金属耐性細胞ではミトコンドリアの質量およびミトコンドリア膜電位のど

ちらにも変化はみられなかった。アポトーシス出現頻度について検討したところ、NRK52EではAsおよびCdともに添加後48時間で、濃度依存性にアポトーシスを誘発した。一方、両金属耐性細胞ではアポトーシスは誘導されなかった。さらに、As-2.5RにCdを、Cd-10RにAsを添加してもアポトーシスは誘導されなかった。

Controlでは、細胞内にoxPCの蓄積を微量認めるのみであったが、AsまたはCdを添加した場合、ともに細胞内に多量のoxPCの蓄積が認められた。しかし、両者に大きな差はみられなかった。

細胞内のMT発現はControlおよびAs添加細胞、As耐性細胞ではその発現は認められなかった。一方、NRK52EにCdを添加した場合、その直後よりMTは強発現した。また、Cd耐性細胞での発現は同濃度Cd添加細胞より強く発現した。

細胞GSH濃度はNRK52EにAsまたはCd添加後、48時間でControlと比較して、有意な濃度依存性の増加を示した。また、耐性細胞内GSH濃度はControlと比較して、Cd耐性細胞では約2倍、As耐性細胞においては約4.5倍に増加していた。

BSOのみをNRK52Eへ添加してもアポトーシスは誘導されなかった。AsまたはCdとBSOを同時添加した場合、単独投与時に比べ、アポトーシスはAsで約38倍に、Cdでは約14倍に増強・誘導された。また、As-2.5RにAs 1  $\mu$ Mまたは2.5  $\mu$ MとBSOを同時添加した場合、アポトーシスが誘導された。Cd-10RではCd 10  $\mu$ MとBSOを同時添加した場合、アポトーシスが誘導された。しかし、Cd 1  $\mu$ MとBSOを同時添加した場合、アポトーシスは誘導されず、同濃度のCd単独投与時と同程度だった。

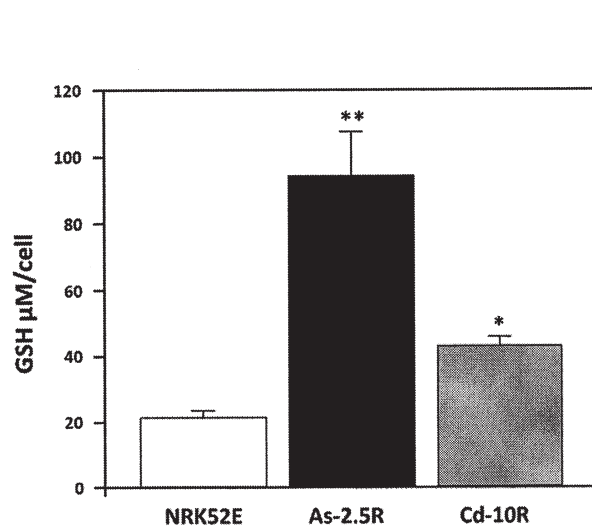


図4. 耐性細胞内GSH濃度  
(\*P<0.05, \*\*P<0.01)

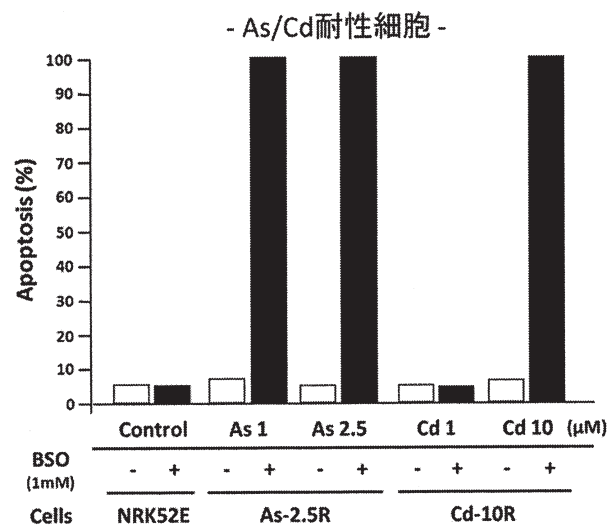


図5. BSO添加によるアポトーシス誘導

#### 【考察】

AsとCdによる細胞死は、ミトコンドリアを介したアポトーシスであり、両者とも48時間後に濃度依存的に誘導された。また、As耐性細胞とCd耐性細胞に交差耐性を認めたことから、両金属におけるアポトーシス誘導機構には何らかの共通の反応経路があることが示唆された。

As耐性細胞ではGSHの強発現、Cd耐性細胞はGSHとMTの強発現により細胞内酸化を抑制し、アポ



トーシス抵抗性を獲得したことが示唆された。また、両金属耐性細胞はGSH合成阻害剤BSO添加でアポトーシス抵抗性が解除され、アポトーシスは再誘導された。この誘導はAs耐性細胞のみならずCd耐性細胞でも認められた。これらのことより、AsおよびCdともに細胞内でGSHが反応可能な酸化を起こさせ、その破綻がアポトーシスを誘発する共通作用機序となっていることが示された。

本実験から、特定の臓器や組織に対するAsまたはCdの毒性はGSHやMTの発現の程度により左右されると考えられる。CdはAsと作用機序が類似していることから臨床応用できる可能性は低い。一方、AsとBSOを添加した場合、抗悪性腫瘍薬耐性後のAPLに対しAs単独投与時よりも有効性が高いことが予想される。また、As治療後にAs耐性になった場合でもBSOを併用することで、抗悪性腫瘍薬耐性を克服することも期待される。

## 総括

がん化学療法では、一人の患者の全身状態(PS)をはじめ、体内動態、遺伝子などを念頭に置き、腫瘍と薬剤との抗腫瘍作用や薬剤耐性などの関係を検討していく必要がある。これらの研究は個別化医療をはじめとするより効率的な治療を目指すにあたり、治療濃度域が狭い抗悪性腫瘍薬を適正により効果的に使用するために行ったものである。臨床薬剤師として基礎研究と臨床研究を結ぶ役割を果たし、生命予後のさらなる改善と患者のQOL向上を目指すことは非常に重要なことであると考えている。

## 謝辞

終わりに臨み、本研究の機会を与えて戴き、終始一貫して暖かい御指導と御鞭撻を賜りました福岡大学薬学部医療構造学教室 原 周司 教授に衷心より深謝の意を表します。

また、本研究を遂行するにあたり、あたたかい御協力と御助言を賜りました同大学医学部腫瘍・血液・感染症内科学講座 高松 泰 准教授ならびに御懇篤な御指導と御協力を賜りました同大学医学部病態構造系総合研究室 自見 至郎 講師、多大なる御助言、激励を賜りました同大学薬学部実務薬剤学教室・福岡大学病院薬剤部 副部長 緒方 憲太郎 講師に深甚なる謝意を表します。

学位論文審査の労をお執りくださいました同大学薬学部創剤学教室 加留部 善晴 教授、同大学薬学部分析化学教室 能田 均 教授、同大学薬学部実務薬剤学教室 二神 幸次郎 教授には副査としてご助言を戴くとともに本論文の細部にわたりご指導を戴き、謹んで感謝の意を表します。

さらに、本研究にあたたかい御協力をいただきました同大学薬学部医療構造学教室 松本 太一 助教ならびに同大学医学部腫瘍・血液・感染症内科学講座、福岡大学病院薬剤部の皆様に深く感謝致します。

## 参考文献

1. Panetta JC, Wall A, Pui CH et al, Methotrexate intracellular disposition in acute lymphoblastic leukemia: A mathematical model of  $\gamma$ -glutamyl hydrolase activity. *Clin Cancer Res* 2002, **8**, 2423-2429.
2. Stark AN, Jackson G, Carey PJ et al, Severe renal toxicity due to intermediate-dose methotrexate. *Cancer Chemother Pharmacol* 1989, **24**, 243-245.
3. Lankelma J, van der Klein E, Ramaekers F, The role of 7-hydroxymethotrexate during methotrexate anti-cancer therapy. *Cancer Letters* 1980, **9**, 133-142.
4. Schilsky, RL, Clinical pharmacology of methotrexate. Elsevier Biomedical Press, Amsterdam, 187-208, 1983.
5. Stoller RG, Hande KR, Jacobs SA et al, Use of plasma pharmacokinetics to predict and prevent methotrexate toxicity. *N Engl J Med* 1977, **297**, 630-634.

6. Sasaki K, Tanaka J, Fujimoto T, Theoretically required urinary flow during high-dose methotrexate infusion. *Cancer Chemother Pharmacol* 1984, **13**, 9-13.
7. Kessel D, A comparison of 4-amino-4-deoxy-N<sup>10</sup>-methylpteroic acid and methotrexate transport by mouse leukemia cells. *Mol Pharmacol* 1969, **5**, 21-25.
8. Donehower RC, Hande KR, Drake JC et al, Presence of 2,4-diamino-N<sup>10</sup>-methylpteroic acid after high-dose methotrexate. *Clin Pharmacol Ther* 1979, **26**, 63-72.
9. Slordal L, Prytz PS, Pettersen I et al, Methotrexate measurements in plasma: comparison of enzyme multiplied immunoassay technique, TDx fluorescence polarization immunoassay and high pressure liquid chromatography. *Ther Drug Monit* 1986, **8**, 368-372.
10. Howell SK, Wang YM, Hosoya R et al, Plasma methotrexate as determined by liquid chromatography, enzyme-inhibition assay, and radioimmunoassay after high-dose infusion. *Clin Chem* 1980, **26**, 734-737.
11. McCrudden EA, Tett SE, Improved high-performance liquid chromatography determination of methotrexate and its major metabolite in plasma using a poly (styrene-divinylbenzene) column. *J Chromatogr B Biomed Sci Appl* 1999, **721**, 87-92.
12. Lu G, Jun HW, Determination of trace methotrexate and 7-OH-methotrexate in plasma by high-performance liquid chromatography with fluorimetric detection. *J Liq Chromatogr* 1995, **18**, 155-171.
13. Schwartz S, Borner K, Müller K et al, Glucarpidase (carboxypeptidase G2) intervention in adult and elderly cancer patients with renal dysfunction and delayed methotrexate elimination after high-dose methotrexate therapy. *The Oncologist* 2007, **12**, 1299-1308.
14. Yamada Y, Tomonaga M, Fukuda H et al, A new G-CSF-supported combination chemotherapy, LSG15, for adult T-cell leukaemia-lymphoma: Japan Clinical Oncology Group Study 9303. *Br J Haematol* 2001, **113**, 375-382.
15. Gill PS, Harrington W Jr, Kaplan MH et al, Treatment of adult T-cell leukemia-lymphoma with a combination of interferon alfa and zidovudine. *N Engl J Med* 1995, **332**, 1744-1748.
16. Hermine O, Bouscary D, Gessain A et al, Brief report: treatment of adult T-cell leukemia-lymphoma with zidovudine and interferon alfa. *N Engl J Med* 1995, **332**, 1749-1751.
17. S Khoo, D Black & C Merry, Practical Guidelines in Antiviral Therapy. Chapter 2: *Pharmacology*, 2002.
18. Ramachandran G, Hemanthkumar AK, Kumaraswami V et al, A simple and rapid liquid chromatography method for simultaneous determination of zidovudine and nevirapine in plasma. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2006, **843**, 339-344.
19. 木村哲, 山田兼雄, 伊藤章 他, HIV感染症に対する3TC (Lamivudine) の第Ⅱ相臨床試験, 化学療法の領域 1998, **14**, 1419-1432.
20. Chen GQ, Zhe J, Shi XG et al, In vitro studies on cellular and molecular mechanisms of arsenic trioxide (As<sub>2</sub>O<sub>3</sub>) in the treatment of acute promyelocytic leukemia. As<sub>2</sub>O<sub>3</sub> induces NB4 cell apoptosis with downregulation of Bcl-2 expression and modulation of PML-RAR/PML proteins. *Blood* 1996, **88**, 1052-1061.
21. Li M, Kondo T, Zhao QL et al, Apoptosis induced by cadmium in human lymphoma U937 cells through Ca<sup>2+</sup>-calpain and caspase-mitochondria dependent pathways. *J Biol Chem* 2000, **275**, 39702-39709.
22. Shenker BJ, Guo TL, Shapiro IM, Mercury-induced apoptosis in human lymphoid cells: evidence that the apoptotic pathway is mercurial species dependent. *Environ Res* 2000, **84**, 89-99.
23. Sun HD, Ma L, Hu XC et al, Ai-Lin 1 treated 32 cases of acute promyelocytic leukemia. *Chin J Integrat Chin*

- West Med* 1997; **12**: 170-172.
24. Vuky J, Yu R, Schwartz L et al, Phase II trial of arsenic trioxide in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Invest New Drugs* 2002, **20**, 327-330.
  25. Zhang T, Wang SS, Hong L et al, Arsenic trioxide induces apoptosis of rat hepatocellular carcinoma cells in vivo. *J Exp Clin Cancer Res* 2003, **22**, 61-68.
  26. Waalkes MP, Rehm S, Cadmium and prostate cancer. *J Toxicol Environ Health* 1994, **43**, 251-269.
  27. Chang LW, Waalkes MP, Misra RR, Cadmium carcinogenicity and genotoxicity. *Toxicology of Metals*. Boca Raton, FL: CRC Press 1996, 231-244.
  28. Waalkes MP, Cadmium carcinogenesis in review. *J Inorg Biochem* 2000, **79**, 241-244.
  29. Waalkes MP, Rhem S, Sass B et al, Induction of tumors of the haematopoietic system by cadmium in rats. *IARC Sci Publ* 1992, **118**, 401-404.
  30. Waalkes MP, Rhem S, Sass B et al, Chronic carcinogenic and toxic effects of a single subcutaneous dose of cadmium in the male Fischer rats. *Environ Res* 1991, **55**, 40-50.
  31. Vuky J, Yu R, Schwartz L et al, Phase II trial of arsenic trioxide in patients with metastatic renal cell carcinoma. *Invest New Drugs* 2002, **20**, 327-330.
  32. Zhang T, Wang SS, Hong L et al, Arsenic trioxide induces apoptosis of rat hepatocellular carcinoma cells in vivo. *J Exp Clin Cancer Res* 2003, **22**, 61-68.
  33. Ramana Kumari MV, Hiramatsu M, Ebadi M, Free radical scavenging actions of metallothionein isoforms I and II. *Free Rad Res* 1998, **29**, 93-101.