

# *In Vivo* $^{19}\text{F}$ -MRS による 5-FU (fluorouracil) の肝臓における代謝の観察 —Uracil 投与による 5-FU の分解抑制について—

原 田 雅 史\*, 西 谷 弘\*, 古 賀 け い 子\*\*  
三 浦 巖\*\*

\*徳島大学放射線医学教室

\*\*大塚製薬(株)徳島研究所

## 1. はじめに

*in vivo* magnetic resonance spectroscopy (*in vivo* MRS と略す) は、非侵襲的かつ経時的に代謝を観察できる利点があり、ATP 等のエネルギー代謝について  $^{31}\text{P}$ -MRS による多くの研究がなされている。最近、 $^{31}\text{P}$  以外の核種についても MRS の有用性が報告されており、特に  $^{19}\text{F}$  については、元来生体内に存在しないことから、 $^{19}\text{F}$  標識物質の生体内観察が可能となっている<sup>1)~4)</sup>。我々は、 $^{19}\text{F}$  標識物質として臨床で最もよく使われている 5-FU (fluorouracil) を使用し、*in vivo* rat 肝における代謝を観察した。

5-FU の代謝については、chromatography 等

を使った多くの研究が行われており<sup>5)6)</sup>、Fig. 1 に示すような経路を通ることが確認されている。5-FU の分解は主として肝において行われ、主要な分解産物は  $\alpha$ -fluoro- $\beta$ -alanine (FBAL と略す) であり、ほとんどはこの形で尿中に排泄される。一方、核酸合成の経路によって生成された fluoronucleotides (Fnct と略す) は、DNA、RNA の阻害を通して抗腫瘍効果を示すと考えられている。また、5-FU と uracil を同時投与することによって 5-FU の代謝が変化することも報告されている<sup>7)8)</sup>。我々は、 $^{19}\text{F}$ -MRS が経時的な観察に優れている点を利用して、uracil と 5-FU の代謝の変化についても検討し、臨床上有用と思われる知見を得たので報告する。

キーワード *in vivo*  $^{19}\text{F}$ -MRS, 5-fluorouracil, liver, metabolism

*In Vivo*  $^{19}\text{F}$ -MRSによる5-FU (fluorouracil)の肝臓における代謝の観察—Uracil投与による5-FUの分解抑制について—

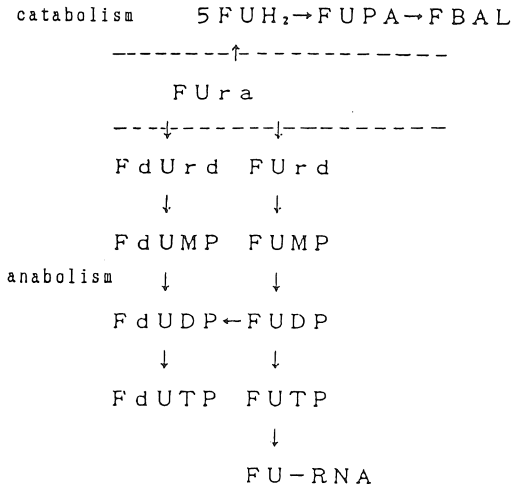


Fig. 1 Pathways of 5-FU metabolism  
 FUra: 5-FU  
 5FUH<sub>2</sub>: 5, 6-dihydro-5-fluorouracil  
 FUPA:  $\alpha$ -fluoro- $\beta$ -ureidopropionic acid  
 FBAL:  $\alpha$ -fluoro- $\beta$ -alanine  
 FdUrd: 5-fluorouridine  
 FdUMP, FdUDP, FdUTP: 5-fluoro-2'-deoxyuridine-5'-mono, di, triphosphate  
 FUMP, FUDP, FUTP: 5-fluorouridine-5'-mono, di, triphosphate (modified from "Direct  $^{19}\text{F}$  NMR spectroscopic observation of 5-fluorouracil metabolism in the isolated perfused mouse liver model" by S. Cabanac et.al.)

## 2. 対象と方法

Wistar Kyoto rat (WKY) 雄性 20 週令を用いた。麻酔は、sodium pentobarbital 50 mg/kg 体重を腹腔内投与して行った。麻酔後大腿静脈にカテーテルを挿入し、外科的に開腹して肝臓の表面にサーフェスコイル (直径 20 mm) が密着するようにプローブを固定した。コイルの圧

迫による肝臓への影響を知るために $^{19}\text{F}$ -MRS 測定前後に $^{31}\text{P}$ -MRS を測定し虚血を示す変化がないことを確認した。

rat は 3 群に分け、5-FU 単独投与群 (n = 6), 5-FU と uracil 同時投与群 (n = 6), 及び uracil 前投与群 (n = 6) とした。5-FU 単独投与群は、5-FU (5-FU 協和, 協和発酵工業) 100 mg/kg 体重を大腿静脈より急速静注し、直後より経時的にスペクトルを測定した。uracil 同時投与群では、uracil 200 mg/kg 体重と 5-FU 100 mg/kg 体重を大腿静脈より同時に投与し、直後よりスペクトルを測定した。uracil 前投与群では、uracil 200 mg/kg 体重を 5-FU 投与 20 分前よりゆっくり静注し、スペクトルは 5-FU 100 mg/kg 体重を静注直後より測定した。

測定装置は、大塚電子 (U.S.A.) INC 社製 BEM 140/200 ( $^{19}\text{F}$  共鳴周波数 187.4 MHz, 磁場強度 4.7 Tesla) を用いた。測定条件は、pulse 幅 100  $\mu\text{s}$ , 繰り返し時間 2.5 s, 積算回数 240 回とし、1 スペクトルの測定時間は 10 分間である。

統計学的な差の検定には t 検定及び Wilcoxon 検定を行った。

## 3. 結果

5-FU 投与によって得られるスペクトルを Fig. 2~4 に示す。既に報告されている結果より<sup>1),3)</sup>, 5-FU の chemical shift を 0 として, -18.8 ppm 及び 4.9 ppm にある peak は、それぞれ FBAL 及び Fnct に由来すると考えた。Fig. 2 は、5-FU 単独投与群である。投与後 0~10 分では 5-FU が非常に高い peak として認められ、20~30 分では FBAL が 5-FU より高い peak となった。80~90 分では、FBAL が高い peak として認められ、5-FU の peak は確認できず、Fnct と思わ

受付年月日 1989年9月1日

別刷請求先 (〒770) 徳島市蔵木町3-18-15 徳島大学放射線医学教室 原田雅史

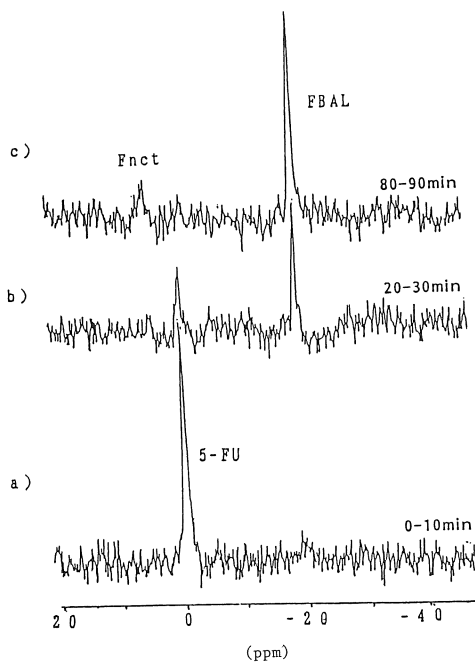


Fig. 2  $^{19}\text{F}$ -MR spectra of the rat liver after administration of 5-FU alone  
 a) 0~10min  
 b) 20~30min  
 c) 80~90min

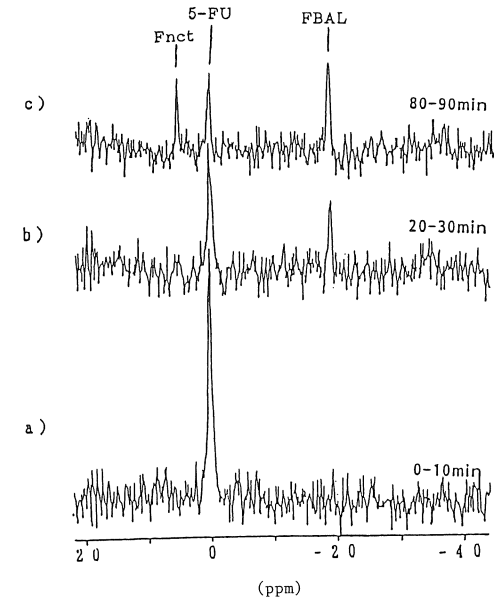
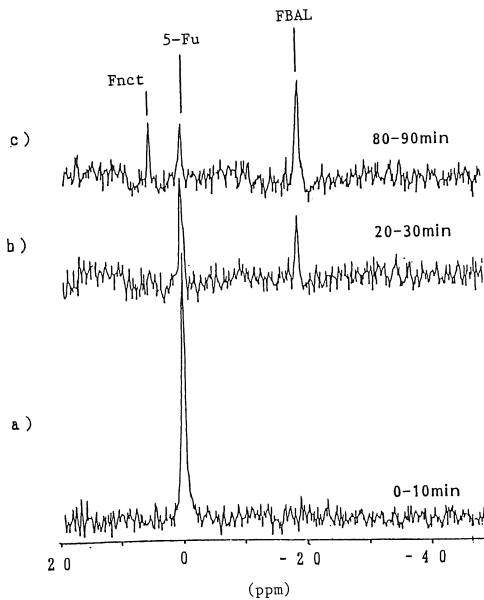


Fig. 4  $^{19}\text{F}$ -MR spectra of the rat liver pre-administered uracil 20min before injection of 5-FU  
 a) 0~10min  
 b) 20~30min  
 c) 80~90min

れる低い peak がわずかに認められた。

Fig. 3 は、uracil 同時投与群であり、Fig. 2 と比べ 5-FU の peak の減少が遅く、FBAL の peak の増高も遅いことが確認できた。さらに、Fnct の peak も 5-FU 単独群より明らかに高くなっていた。

Fig. 4 は uracil 前投与群である。

5-FU の減少を比較検討するために各群の 0~10 分間の peak intensity を 1 とし、それぞれ

Fig. 3  $^{19}\text{F}$ -MR spectra of the rat liver after simultaneous administration of 5-FU and uracil  
 a) 0~10min  
 b) 20~30min  
 c) 80~90min

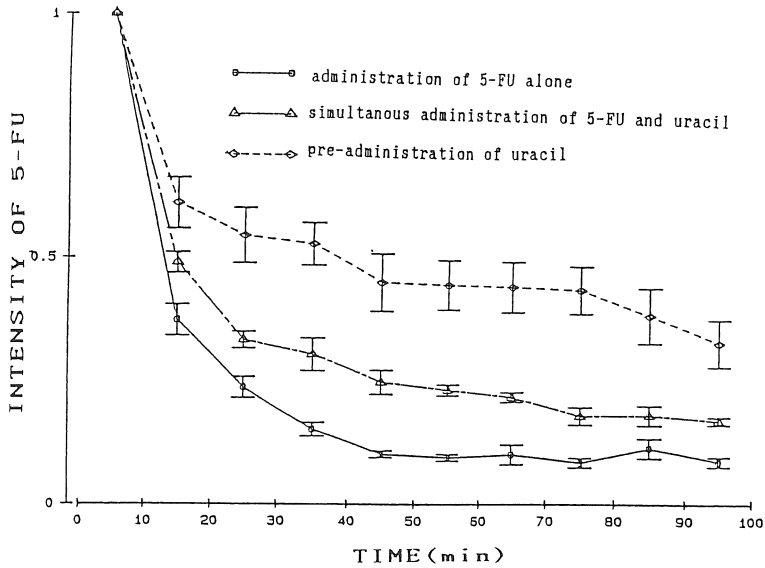


Fig. 5 Time courses of 5-FU peak intensities  
Pre-administration of uracil suppressed decrease of 5-FU more than simultaneous administration of 5-FU and uracil.  
Error bars show S.E.

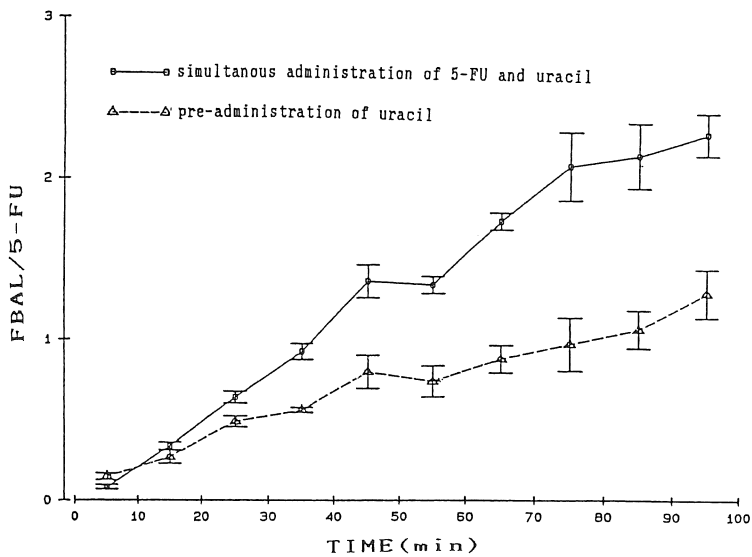


Fig. 6 Time courses of FBAL/5-FU  
Pre-administration of uracil suppressed catabolism more than simultaneous administration of 5-FU and uracil.  
Error bars show S.E..

の時間における変化を比較検討した。Fig. 5 に示すように uracil 前投与群において、同時投与群より、5-FU の減少が遅くなる傾向にあった。

さらに、uracil 同時投与と前投与における FBAL への分解を比較検討するために、各時間における FBAL の intensity を 5-FU の intensity で除した値 (FBAL/5-FU) を求めた。その結果、Fig. 6 に示すように、同時投与群より前投与群において 5-FU の分解が遅くなる傾向を認めた。

また、Fnc<sub>t</sub> の生成についても検討を行った。比較のために、Fnc<sub>t</sub> の intensity を 5-FU の intensity と FBAL の intensity の和で除した値 (Fnc<sub>t</sub>/(5-FU+FBAL)) を用いた。Fig. 7 のように、5-FU 単独群と比べ、uracil 投与によって Fnc<sub>t</sub> の生成が増加する傾向にあった。しかし、

uracil 同時投与と前投与との間にはほとんど差はみられず、統計学的にも 5% の確率水準での有意差は認めなかった。

#### 4. 考 察

<sup>19</sup>F-MRS による 5-FU の代謝の研究は、血液や尿の分析を中心としたものがほとんどで、肝臓による代謝を直接観察した報告は、我々が調べた範囲では、Stevens らの *in vivo* の測定<sup>1)</sup>、Cabanac らの灌流モデル<sup>2)</sup>、及び Wolf らによる担癌患者 4 名における観察<sup>3)</sup>のみであった。このうち Stevens らの報告と Cabanac らの報告の間には、*in vivo* と灌流モデルという差を考慮しても、一致しない結果が認められる。それは、Stevens らが 5-FU 投与後の代謝産物として投与後 60 か

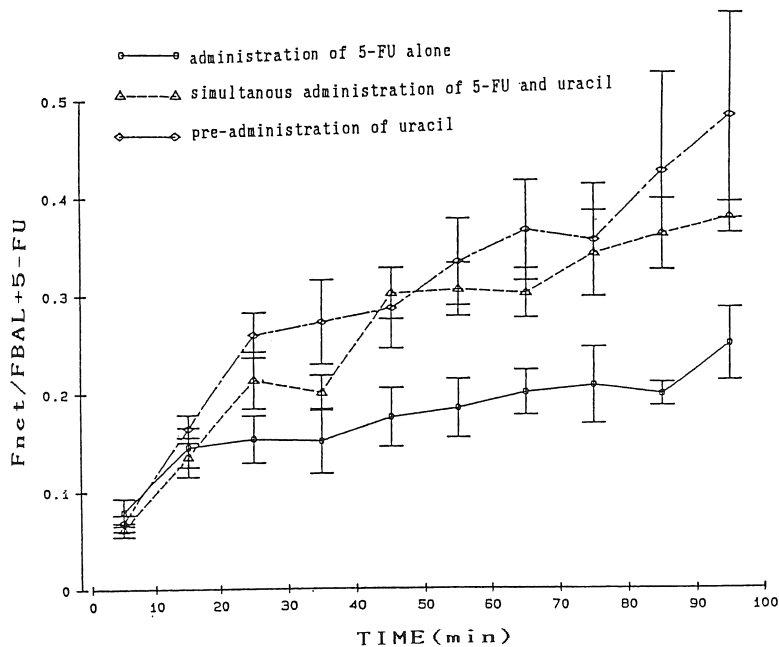


Fig. 7 Time courses of Fnc<sub>t</sub>/5-FU+FBAL. Concomitant treatment of uracil and 5-FU increases Fnc<sub>t</sub> (fluoronucleotides). Any difference could not be found between pre-administration of uracil and simultaneous administration. Error bars show S.E..

*In Vivo*  $^{19}\text{F}$ -MRSによる5-FU (fluorouracil)の肝臓における代謝の観察—Uracil投与による5-FUの分解抑制について—

ら120分まではdihydrofluorouracil(FUH<sub>2</sub>と略す)のpeakが確認できるとしているのに対し、CabanacらはFUH<sub>2</sub>は認めなかったとしている点である。我々の観察でもFUH<sub>2</sub>のpeakは認められず、Wolfらの患者を対象とした測定でもFBALしか確認されていない。

また、Stevensらがfluorodeoxyuridine(FdUrdと略す)としているpeakに対して、CabanacらはFnctを含んだものであろうと述べている。Keniryらは5-FUの腫瘍に対する研究のなかで、fluronucleosidesとFnct(fluronucleotides)のchemical shiftは、5-FUを0とした場合、それぞれ3.8 ppmと4.9 ppmという近い位置にあり、リン酸結合の数による差は区別できないとしている<sup>4)</sup>。StevensらがFdUrdとしたpeakは、幅広く多峰性にもみえ、Cabanacらが指摘しているように、多くはFnctを見ているものと推察する。

また、Cabanacらの灌流肝モデルではfluorouridopropionic acidのpeakが低く認められているが、我々の実験では確認できず、Wolfらの結果も同様である。これは、モデルによる差に加えて磁場強度による感度の差も大きく関与していると考えられる。

従って、*in vivo*  $^{19}\text{F}$ -MRSによる5-FUの観察で、代謝産物として確認しえるのは、主としてFBALとFnctであると考ええる。

uracil投与における5-FUの代謝の変化については既に多くの報告があり、5-FUの分解抑制による抗腫瘍効果の増強が確認されている<sup>9)10)</sup>。しかし、そのほとんどが5-FUとuracilの同時投与であり、uracilを前投与して肝内の分解酵素を飽和させ、その後5-FUを投与する試みは、我々の知る限りでは行われていない。これは、*in vivo*で経時的に代謝の変化を観察する簡便な手法がなかったためと考えられる。今回我々は、MRSの特徴を利用して経時的変化を比較検討した。その結果、uracilと5-FUの同時投与に比し、

uracil前投与の方がより5-FUの分解を抑制した。今回の検討だけでは、その明かな理由は断定できないが、既にdihydrouracil dehydrogenaseのVmaxが低く飽和しやすいことは知られており<sup>9)</sup>、uracil前投与で分解酵素が飽和し肝内uracil濃度が高く維持され、その後投与された5-FUの分解を抑制することが予想される。

また5-FUの副作用の研究の中には、FBALのTCACycleの阻害が一因とする報告も多い<sup>11)12)</sup>。このことは、uracil投与によるFBALへの生成抑制が副作用の軽減につながる可能性を示唆するものと考えられる。しかし、副作用の出現には様々な要因が複合的に加味されると考えられ、今後さらに検討を行う必要があろう。

MRSの問題点として、*in vivo*のMRSで得られる情報は、対象物質が遊離している分子に限られるという点がある。従って、蛋白と結合したり、RNAやDNAの構造物として取り込まれた場合にはその情報は取得できない。 $^{19}\text{F}$ -MRSによってFUH<sub>2</sub>の情報が得られない原因も、FUH<sub>2</sub>が蛋白と固く結合しているためと考えられている<sup>2)</sup>。

現在MRIの普及にともなって、臨床医の間にもMRSに対する注目度が次第に高まってきている。しかし、そのほとんどが $^{31}\text{P}$ -MRSについてであり、 $^{19}\text{F}$ -MRSや $^{13}\text{C}$ -MRSの臨床への応用は今の所非常に少ない。だが、多核種を対象としたMRSの応用は、他の手法では得られない新たな情報を取得しうる可能性がある。例えば、 $^{19}\text{F}$ 標識物質を投与し、その代謝を観察することによって、臓器の代謝機能評価や薬物の至適投与量の決定に応用できると考えており、*in vivo* MRSの新しい利用法として現在検討を進めている。

5. ま と め

1) *in vivo* <sup>19</sup>F-MRS により 5-FU の肝臓における代謝を観察した。分解産物としては FBAL が高い peak として認められ、核酸合成経路では Fnc<sub>t</sub> が認められた。しかし、その他の代謝産物は確認できなかった。

2) uracil 投与により、5-FU の分解は著明に抑制される。特に uracil 前投与群の方が、uracil 同時投与群より抑制効果が強かった。

3) 5-FU の Fnc<sub>t</sub> への代謝は、uracil 投与により増加するが、uracil 前投与と同時投与とで有意差は認めなかった。

我々は、<sup>19</sup>F-MRS における <sup>19</sup>F 標識物質の生体観察を通し、今後特定臓器の機能評価や薬物の至適投与量の決定等新しい MRS の応用の検討を行っていきたい。

文 献

- 1) A.N. Ntevens, P.G. Morris, R.A. Iles, et al.; 5-Fluorouracil metabolism monitored in vivo by <sup>19</sup>F NMR, Br.J. Cancer, 50 : 113-117, 1984
- 2) S. CAbanac, M.C. Malet-Martino, M. Bon, et al.; Direct <sup>19</sup>F NMR spectroscopic observation of 5-fluorouracil metabolism in the isolated perfused mouse liver model, NMR in Biomedicine, 1 : 113-120, 1988
- 3) W. Wolf, M.J. Albright, S.M. Siver, et al.; Fluorine-19 NMR spectroscopic studies on the metabolism of 5-fluorouracil in the liver of patients undergoing chemotherapy, Magn. Reson. Imaging, 5 : 165-169, 1987
- 4) M. Keniry, C. Benz, R.H. Shafer, et al.; Noninvasive spectroscopic analysis of fluoropyrimidine metabolism in cultured tumor cells, Cancer Res., 46 : 1754-1758, 1986
- 5) J.P. Sommadossi, D.A. Gewirtz, R.B. Diasios, et al.; Rapid catabolism of 5-fluorouracil in freshly isolated rat hepatocytes as analyzed by high performance liquid chromatography, J. Biol. Chem., 257 : 8171-8176, 1982
- 6) C. Aubert, J.P. Sommadossi, P.H. Coassolo, et al.; Quantitative analysis of 5-fluorouracil and 6-dihydro-fluorouracil in plasma by gas chromatography mass spectrometry, Biomed. mass spect., 9 : 336-339, 1982
- 7) Y.M. Rustum, L. Danhauser, C. Luccinoi, et al.; Determinants of response to antimetabolites and their modulation by normal purine and pyrimidine metabolites, Cancer Treat. Rep., 65 : 73-82, 1981
- 8) J.P. Sommadossi, D.A. Gewirtz, D.S. Cross, et al.; Modulation of 5-fluorouracil catabolism in isolate rat hepatocytes with enhancement of 5-fluorouracil glucuronide formation, Cancer Res., 45 : 116-121, 1985
- 9) S. Fujii, S. Kitano, K. Ikenaka, et al.; Effect of coadministration of uracil or cytosine on the antitumor activity of clinical doses of 1-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil and level of 5-fluorouracil in rodents, Gann, 70 : 209-214, 1979
- 10) N. Unimi, S. Takeda; Studies on combination therapy with 1-(tetrahydro-2-furanyl)-5-fluorouracil plus uracil, Chemotherapy, 29 : 164-175, 1981
- 11) H. Koenig, A. Putel; Biochemical Basis of the acute cerebellar syndrome in 5-fluorouracil chemotherapy, Trans. Amer. Neurol. Assoc., 94 : 290-292, 1969
- 12) 隆田理喜, 渋谷淳, 松尾崇; フルオロ酢酸とフルオロアラニンの亜急性神経毒性に関する実験的研究, 第 30 回日本神経病理学会総会学術研究会-プログラム・抄録集-p 210, 1989

***In Vivo* <sup>19</sup>F-MRS Observation of 5-FU Metabolism  
in the Liver  
-Suppression of 5-Fluorouracil  
Catabolism by Uracil-**

MASAFUMI HARADA,\* HIROMU NISHITANI,\* KEIKO KOGA\*\*  
IWAO MIURA\*\*

\**Department of Radiology, School of Medicine, Tokushima university*  
\*\**Tokushima Res. Inst. Otsuka Pharmaceutical Co. Ltd.*

We observed metabolic changes of 5-FU (fluorouracil) in the rat liver by administration of uracil used *in vivo* <sup>19</sup>F-MRS. This study shows differences of 5-FU metabolism between simultaneous administration of uracil and pre-administration. A catheter was inserted into the femoral vein of the rat and a surface coil was placed on the liver directly after laparotomy. Spectra were obtained continuously after intravenous injection of 5-FU 100mg/kg body weight.

The strong peak of FBAL ( $\alpha$ -fluoro- $\beta$ -alanine), which is the major catabolites, and the peak of Fnct (fluronucleotides) were recognized. But any peak of other metabolites was not detected.

Administration of uracil (200mg/kg) suppressed 5-FU catabolism. In particular, pre-administration of uracil 20min prior to injection of 5-FU suppressed catabolism remarkably in comparison with simultaneous administration of uracil.

On the other hand, administration of uracil, i.e. both pre-administration of uracil and simultaneous administration increased Fnct as the pathway of anabolism. But any difference of Fnct synthesis could not be found between pre-administration of uracil and simultaneous administration.

This result shows that pre-administration of uracil suppressed 5-FU catabolism remarkably and it is expected to increase anticancer effects compared with simultaneous administration of uracil.

<sup>19</sup>F-MRS has an advantage that the metabolism of living bodies easily observed continuously. We are trying to find new methods for the assessment of visceral function by the application of *in vivo* <sup>19</sup>F-MRS.