

実験的膀胱腫瘍モデルを用いた抗癌剤効果判定

奈良県立医科大学泌尿器科学教室 (主任: 岡島英五郎教授)

平尾 佳彦, 百瀬 均, 三馬 省二, 大園誠一郎

馬場谷勝廣, 岡島英五郎

EXPERIMENTAL MODEL OF URINARY BLADDER TUMOR IN RATS FOR EVALUATION OF CHEMOTHERAPEUTIC AGENTS

Yoshihiko HIRAO, Hitoshi MOMOSE, Shoji SAMMA,
Seiichiro OZONO, Katsuhiko BABAYA and Eigoro OKAJIMA*From the Department of Urology, Nara Medical University
(Director: Prof. E. Okajima)*

The chemotherapeutic agents were evaluated using the experimental urinary bladder tumor rat model induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN). Nine hundred and fourteen male rats received 0.05% BBN in drinking water for 8 weeks, and were divided into 35 groups to follow the regimens of chemotherapeutic agents. Thirty one groups received the agents after BBN treatment, and 4 groups were given the oral agents starting simultaneously with BBN treatment. All rats were killed at 20 weeks and incidence of the urinary bladder was examined histopathologically.

The following 13 agents were evaluated; adriamycin (ADM), mitomycin-C (MMC), cyclophosphamide (CPM), 5-fluoro-uracil (5-Fu), N-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (FT-207), neocarzinostatin (NCS), carbazil quinone (CQ), bleomycin (BLM), vincristine (VCR) and cis-diamminedichloroplatinum (CDDP) were dosed intraperitoneally, and N-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (FT-207), 1: 4 mixture of FT-207 and uracil (UFT) and 1-Hexylcarbonyl-5-fluorouracil (HCFU) were dosed orally. Among these agents, 5-Fu, FT-207, CQ, VCR, CDDP, UFT and HCFU were effective in inhibiting the incidence of urinary bladder tumor induced by BBN.

In conclusion, the experimental bladder tumor rat model induced by BBN seems to be useful in evaluating the effective chemotherapeutic agents for a superficial bladder cancer. The importance of the experimental animal model for the evaluation of chemotherapeutic agents is discussed.

(Acta Urol. Jpn. 34: 1885-1893, 1988)

Key words: Rat bladder tumor, Chemical carcinogenesis, Animal model, Chemotherapeutic agent, Experimental chemotherapy

はじめに

癌の化学療法は成績向上には有効かつ副作用のない薬剤を選択すべきことはいままでもないが、近年、多くの抗癌剤が開発されて臨床に供されているにもかかわらず、有効な薬剤の選択・効果判定の方法は未だ確立されていないのが現況である。

われわれは従来より N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (以下 BBN と略す) によるラットの膀胱発癌実験モデルを用いて、種々の抗癌剤の抗腫瘍効果を検討して報告してきたが¹⁻⁵⁾、今回はこれらの成

績を総括するとともに、抗癌剤の効果判定法における *in vivo* 短期スクリーニング法としての BBN によるラット膀胱腫瘍モデルの有用性について報告する。

実験と方法

I ラット膀胱腫瘍実験モデルについて

BBN を用いたラット膀胱腫瘍実験モデルは伊東らとの共同研究によって教室において確立された実験系で、選択的な膀胱化学発癌剤である BBN をラットに経口投与することにより、比較的短期間に高率に膀

Table 1. Incidence of urinary bladder lesions during observation in Wistar strain rats treated with 0.05% BBN in drinking water for 8 weeks

Weeks after 8 weeks of BBN treatment	Effective No. of Rat	Incidence of bladder lesions		
		Hyperplasia	Papilloma	Carcinoma
0 week	6	6(100%)	2(33%)	0
4 weeks	6	6(100%)	3(50%)	0
8 weeks	7	6(86%)	4(57%)	0
12 weeks	10	10(100%)	10(100%)	2(20%)
32 weeks	10	10(100%)	9(90%)	9(90%)

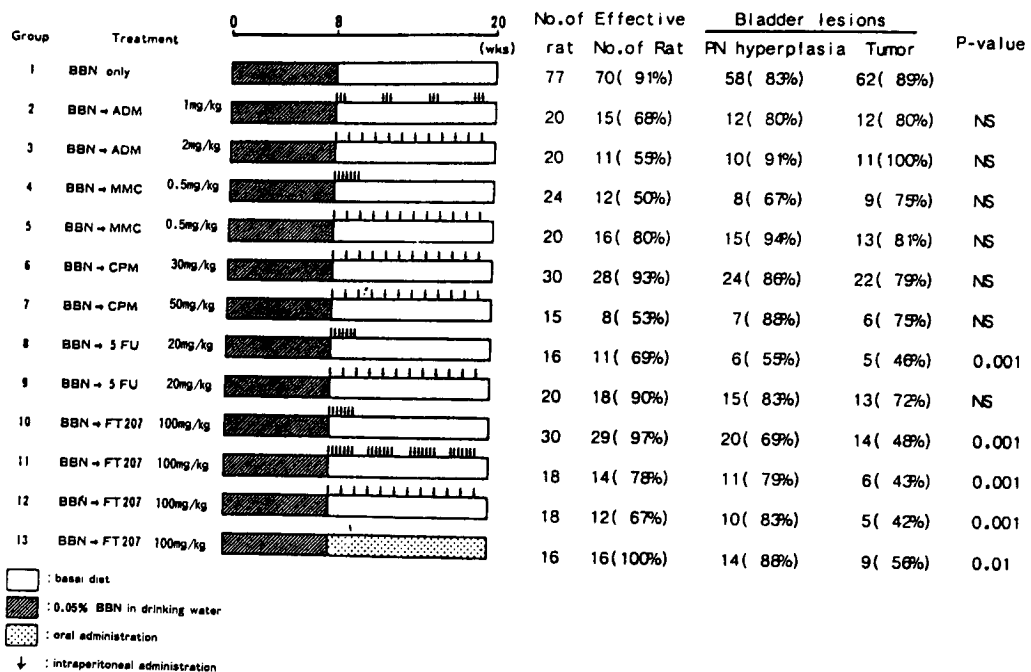


Fig. 1. Experimental design and results of effects of single chemotherapeutic agents on the development of urinary bladder tumors in rats induced by 0.05% BBN in drinking water for 8 weeks

膀胱腫瘍を発生させることができる⁶⁻⁷⁾。BBN 膀胱発がんに関しては BBN の投与濃度、投与期間および観察期間をはじめ腫瘍発生に関するさまざまな因子について詳細な報告があるが⁸⁻¹¹⁾、0.05% BBN の8週間の経口投与で膀胱粘膜の非可逆的増殖変化である限局性過形成がほぼ100%に、乳頭腫が約30%に発生し、その後の観察期間の延長とともに腫瘍発生頻度が増加し BBN 投与中止後12週で腫瘍発生がほぼ100%にみられる^{2,7,9)} (Table 1)。今回の抗癌剤の抗腫瘍効果の検討には、0.05% BBN を8週間投与し、その後12週間観察するラット膀胱発癌実験モデルを用いた。

II. 実験動物

今回の実験には体重 150~200 g の Wistar 系雄性

ラット (富士アニマル・東京および日本クレア・東京) 562 匹と Fischer 系雄性ラット (日本チャールスリバー・東京) 352 匹を用いた。飼料は繁殖用市販標準飼料 (MF, オリエンタル酵母および CRF-I, 日本チャールスリバー) を用い、経口投与実験系ではそれぞれの粉末飼料を用いた。

III. 発癌物質

N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (泉化学・横浜および岩井化学薬品・東京) を少量の Tween 80 と混じて 0.05% 飲料水を作製し、遮光瓶を用いて8週間経口投与した。

IV. 抗癌剤ならびに実験群

投与した抗癌剤およびその用量・用法により単剤投

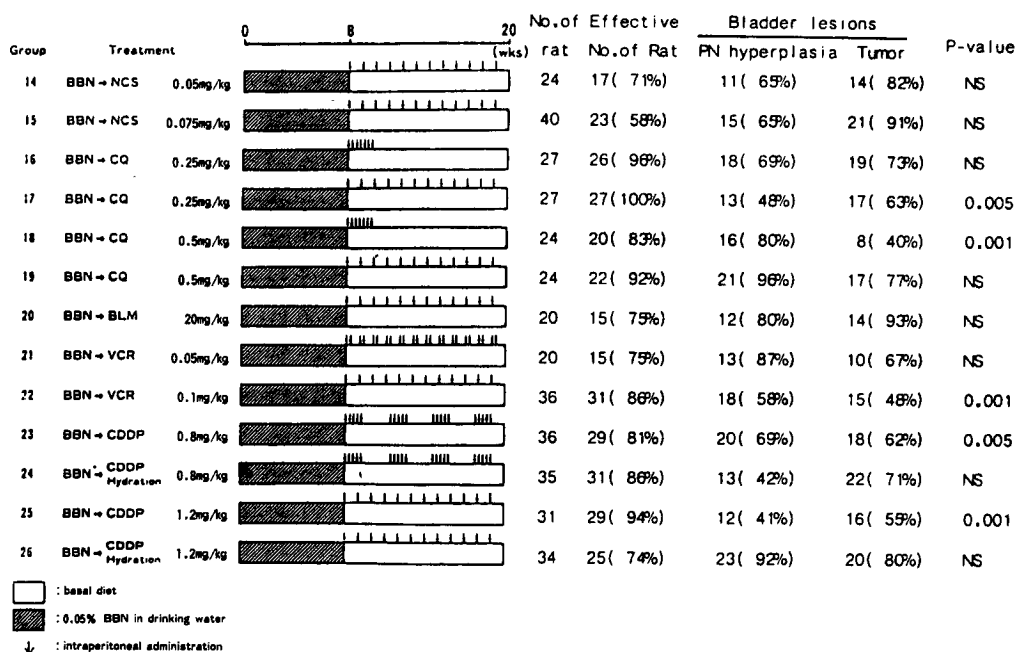


Fig. 2. Experimental design and results of effects of single chemotherapeutic agents on the development of urinary bladder tumors in rats induced by 0.05% BBN in drinking water for 8 weeks

と実験系（第1～26群）および経口投与実験系（第27～35群）の2実験系の総計35群にわけて実験した。また、各抗癌剤投与にあたっては、それぞれ BBN 非投与対照群を作製したが、今回の報告では割愛した。

1) 抗癌剤単剤投与実験群

702匹のラットを以下の実験計画にしたがい、26群に分けて実験を行った (Fig. 1, 2)。すなわち、0.05% BBN を8週間投与終了直後より各抗癌剤の投与を行った。用いた抗癌剤は adriamycin (ADM), mitomycin-C (MMC), cyclophosphamide (CPM) 5-fluoro-uracil (5-Fu), N-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (FT-207), neocarcinostatine (NCS), carbazil quinone (CQ), bleomycin (BLM), vincristine (VCR), cis-diamminedichloroplatinum (CDDP) の10剤で、これらは FT-207 の経口投与を行った第13群を除いて、生理食塩水に溶解し腹腔内投与をした。数回に分けて行った実験ごとに、15～20匹の BBN 投与のみの対照群を設けたが、それぞれの対照群の腫瘍発生頻度には大きな差異はなく対照群として第1群に包括して記載した。

投与量は 5-Fu, NCS, VCR を除いてすべてラットの LD50 の1/10量、5-Fu, NCS, VCR は前試験で LD50 の1/10量では毒性が強く、LD50 の1/50量

を用いた。投与スケジュールは主として臨床に用いられている方法に準じて行った。

第1群：77匹のラットを用い、BBN の投与のみを行った対照群。

第2群：20匹のラットに ADM 1 mg/kg. BW の3日間連日投与を3週間隔で3回投与。

第3群：20匹のラットに ADM 2 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第4群：24匹のラットに MMC 0.5 mg/kg. BW を BBN 投与終了後7日間のみ連日投与。

第5群：20匹のラットに MMC 0.5 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第6群：30匹のラットに CPM 20 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第7群：15匹のラットに CPM 50 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第8群：16匹のラットに 5-Fu 20 mg/kg. BW を BBN 投与終了後7日間のみ連日投与。

第9群：20匹のラットに 5-Fu 20 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第10群：30匹のラットに FT-207 100 mg/kg. BW を BBN 投与終了後7日間のみ連日投与。

第11群：18匹のラットに FT-207 100 mg/kg. BW の

7日間連日投与を3週間隔で4回投与。

第12群：18匹のラットに FT-207 100 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第13群：16匹のラットに FT-207 100 mg/kg. BW を12週間連日経口投与。

第14群：24匹のラットに NCS 0.05 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第15群：40匹のラットに NCS 0.75 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第16群：27匹のラットに CQ 0.25 mg/kg. BW をBBN 投与終了後7日間のみ連日投与。

第17群：27匹のラットに CQ 0.25 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第18群：24匹のラットに CQ 0.5 mg/kg. BW をBBN 投与終了後7日間のみ連日投与。

第19群：24匹のラットに CQ 0.5 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第20群：20匹のラットに BLM 20 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第21群：36匹のラットに VCR 0.05 mg/kg. BW の2日間連日投与を1週間隔で12回投与。

第22群：20匹のラットに VCR 0.1 mg/kg. BW を1週間隔で12回投与。

第23群：36匹のラットに CDDP 0.8 mg/kg. BW の5日間連日投与を利尿負荷せず3週間隔で4回投与。

第24群：35匹のラットに CDDP 0.8 mg/kg. BW の5日間連日投与を利尿負荷併用し3週間隔で4回投与。

第25群：31匹のラットに CDDP 1.2 mg/kg. BW を利尿負荷せず、1週間隔で12回投与。

第26群：34匹のラットに CDDP 1.2 mg/kg. BW を利尿負荷併用し1週間隔で12回投与。

2) 抗癌剤経口投与実験系

抗癌剤の経口投与による抗腫瘍効果を検討するために N-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (FT-207), 1:4 mixture of FT-207 and uracil (UFT), および 1-hexylcarbonyl-5-fluorouracil (HCFU) を粉末飼料に混じて以下に示す実験群を作製し経口投与を行った (Fig. 3)。投与期間中、毎週体重測定ならびに経口摂取量を測定し、抗癌剤の投与が 100 mg/day kg BW になるように粉末飼料と薬剤の混合比を適時調整した。各実験ごとに20匹の BBN 投与のみの対照群を設けたが、それぞれの対照群の腫瘍発生頻度には大きな差異はなく第27群に包括して記載した。第27群：60匹のラットを用いた BBN 投与のみの対照群。

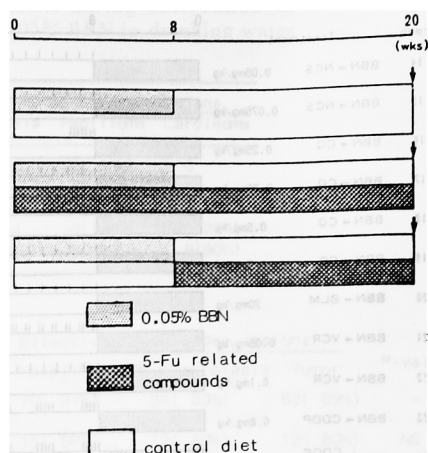


Fig. 3. Experimental design on effects of oral administration of 5-Fu related compounds on the development of urinary bladder tumors in Fischer rats induced by 0.05% BBN in drinking water for 8 weeks

第28群：16匹のラットを用いた BBN 投与終了後に FT-207 100 mg/day kg BW を12週間投与する群。

第29群：16匹のラットを用いた BBN 投与と同時に FT-207 100 mg/day kg BW を始め20週の全期間投与する群。

第30群：20匹のラットを用いた BBN 投与終了後に UFT 100 mg/day kg BW を12週間投与する群。

第31群：20匹のラットを用いた BBN 投与と同時に UFT 100 mg/day kg BW を始め20週の全期間投与する群。

第32群：20匹のラットを用いた BBN 投与終了後に UFT 200 mg/day kg BW を12週間投与する群。

第33群：20匹のラットを用いた BBN 投与と同時に UFT 200 mg/day kg BW を始め20週の全期間投与する群。

第34群：20匹のラットを用いた BBN 投与終了後に HCFU 100 mg/day kg BW を12週間投与する群。

第35群：20匹のラットを用いた BBN 投与と同時に HCFU 100 mg/day kg BW を始め20週の全期間投与する群。

V. 効果判定

各実験群のラットは実験開始後20週で屠殺し、病理組織学的検索を行った。膀胱腫瘍の発生頻度について抗癌剤投与の各群と BBN 投与のみの対照群を比較検討した。なお、有意差検定は χ^2 -test で行った。

Table 2. Incidences of urinary bladder tumor in Fischer rats induced by 0.05% BBN in drinking water for 8 weeks and treated with oral administration of FT-207, UFT or HCFU

Group	No. of rat	Effective No. of Rat	Incidence of bladder lesions	
			PN hyperplasia	Tumor
27 BBN alone	60	58	57 (95%)	51 (90%)
28 FT-207 100mg (12Wks)	16	16	14 (88%)	9 (56%)
29 + FT-207 100mg (20Wks)	16	12	10 (83%)	8 (67%)
30 UFT 100mg (12Wks)	20	20	20 (100%)	14 (70%)
31 + UFT 100mg (20Wks)	20	20	20 (100%)	13 (65%)
32 UFT 200mg (12wks)	20	20	20 (100%)	6 (30%)
33 + UFT 200mg (20Wks)	20	20	17 (85%)	6 (30%)
34 HCFU 100mg (12Wks)	20	19	12 (63%)	4 (21%)
35 + HCFU 100mg (20Wks)	20	20	6 (30%)	0 (0%)

FT-207 : 1-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil

UFT : 1:4 Mixture of FT-207 and Uracil

UFT 100mg contains FT-207 30.9mg

HCFU : 1-hexylcarbamoyl-5-fluorouracil

実験結果

1) 単剤投与実験系

単剤投与による実験結果は Fig. 1, 2 に示すごとくであるが, 20週まで観察しえた有効観察率は投与薬剤・投与方法によって異なるが, それぞれ 50~100% であった. BBN 投与のみの対照群と各群の膀胱腫瘍の発生頻度を比較検討した結果, 推計学的に有意に膀胱腫瘍の発生が抑制されたのは 5-Fu (group 8), FT207 (group 10~13), CQ (group 17, 19), VCR (group 22) および CDDP (group 23, 25) の10群であった. ADM, MMC, CPM, NCS および BLM の各群の膀胱腫瘍の発生頻度は対照群と比較して有意の差はなかった.

2) 経口投与実験系

5-Fu の pre-drugs の経口投与の実験結果は Table 2 に示すが, いずれの群においても膀胱腫瘍発生の抑制がみられ, とくに UFT, HCFU 投与群ではいずれの群においても用量依存的に腫瘍発生の抑制がみられた (Table 2).

考 察

抗癌剤の選択ならびに効果判定に用いられている主な実験的操作法は, 1)新たに開発された化学物質の毒性および一般的な抗腫瘍効果のスクリーニングを目的とするもの, 2)個々の系統の悪性腫瘍を対象として, 既に確立された腫瘍細胞株¹²⁾や動物実験モデル³⁾を用いて, *in vivo* もしくは *in vitro* で抗癌剤の感受性をスクリーニングするもの, またはそれらの併用効果や投与方法の検討を目的とするもの, 3)個々の症例から摘出した腫瘍細胞を用いて, *in vivo* もしくは *in vi-*

tro で抗癌剤の感受性を検索し, その結果を基にそれぞれの症例に最適な薬剤の選択を目的とするもの¹³⁻¹⁶⁾の三つに大別される.

今回, われわれが検討したラットの実験的膀胱腫瘍モデルを用いた膀胱腫瘍に対する抗癌剤の効果判定法は上記の 2) の範中に属するものである. ラットの実験的膀胱腫瘍モデルは化学発癌剤で誘発されているが, 1)膀胱のみに腫瘍が発生し, 2)その発生・進展様式ならびに組織形態はヒト膀胱癌に類似であり, 3)投与された薬剤の代謝・体内分布は最も臨床症例に類似しており, 3)培養細胞や移植腫瘍モデルと異なり, より自然な免疫関与機構を保持しているなど, 抗癌剤の効果判定に用いる実験方法として多くの利点がある.

化学発癌による実験動物膀胱腫瘍モデルについては既に多くの報告があるが, 化学発癌剤として BBN^{6-9, 17-19)}や FANFT²⁰⁾の経口投与および N-methyl-N-nitrosourea (MNU)²¹⁾の膀胱内注入が用いられてきたが, 膀胱のみを標的臓器とし, 短期間で高い頻度で腫瘍が発生すること, さらに発癌化学物質の入手および手技の容易さから本邦では BBN が多くの研究機関で用いられている.

BBN 投与により発生する膀胱腫瘍の病理組織所見には動物種差がみられ, ラットでは low grade, low stage の表在性腫瘍が^{2, 7, 9)}, またマウスでは high grade, high stage の浸潤性腫瘍が^{17, 18)}, イヌでは両者いずれもが発生することが知られている¹⁹⁾. 今回, われわれが用いたラット膀胱腫瘍モデルは表在性膀胱腫瘍の発生・進展様式ならびに種々の増殖・抑制因子の解明にはきわめて優れたモデルであり, 今回スクリーニングした抗癌剤の 5-Fu 系剤, CQ, VCR

や CDDP などが、この実験系においても BBN による膀胱腫瘍の発育を抑制し、臨床成績と一致する良好な結果が得られた。しかしながら、今回用いた抗癌剤の中には臨床成績と矛盾した結果が得られたものがあり、これらの薬剤の臨床成績が比較的 high grade, high stage の膀胱癌を適応対象としていることもあり、浸潤性膀胱癌に対する治療モデルとして有用性があると考えられるマウス BBN 膀胱発癌モデルを用いて同様の検討を行えば異なった結果が得られたかも知れず、今後検討すべき課題と考える。しかしながら膀胱癌に対する抗癌剤の効果判定には、同一動物種で両者いずれの腫瘍増殖様式をとる動物モデルを用いて検討することが望まれることは言うまでもない。ラットにおいては投与する発癌化学物質およびその投与量にかかわらず low grade, low stage の乳頭状膀胱腫瘍が発生することはよく知られているが、しかし、Oyasu ら²²⁾のラットの異所性移植膀胱モデルを用いた膀胱発癌実験において、BBN を投与したラット膀胱の腎筋内に移植し接続したリザーバーからこの膀胱内に MNU を注入した結果、ラット膀胱においても浸潤性膀胱腫瘍が発生することを報告している。またわれわれはラットに MNU 膀胱内注入と BBN 経口投与を併用することにより乳頭状腫瘍に加えて非乳頭状腫瘍の発生頻度が増加することを報告し²³⁾、今後、ラットにおいても浸潤性膀胱腫瘍実験モデルの開発が期待される。乳頭状・非浸潤性と非乳頭状・浸潤性に大別されるヒト膀胱癌にきわめて類似の膀胱癌を発生しうるイスモデルは、血液・尿検査、X線検査、膀胱鏡検査や組織生検で臨床経過を繰り返して観察することが容易であること、さらに必要に応じて外科的治療が可能であることなど、多彩な発生と進展を示すヒト膀胱癌に対する実験的モデルとして優れた点を有している¹⁹⁾。しかし、現時点では抗癌剤の効果判定に用いる動物モデルとしては、膀胱癌の発生まで長期間を要し、これにかかわる費用など解決されねばならない点が多い。

今回は膀胱腫瘍に対する短期間での抗癌剤スクリーニング法として BBN 8週間投与・全実験期間20週間のモデルを用いたが、BBN 8週間投与の時点では膀胱腫瘍の発生頻度は33%で、本実験系では抗癌剤の抗腫瘍効果を判定しているというよりは、前癌病変から腫瘍への発育抑制効果を判定していることは否めない。抗癌剤の治療効果判定には、さらに BBN 投与期間と観察期間を延長して100%腫瘍が発生した時点で抗癌剤の投与を開始するモデルについても検討する必要があると考えられる。

抗癌剤多剤併用投与の短期スクリーニング法としての基礎資料を得るために、膀胱腫瘍がほぼ100%発生する BBN 12週間投与の実験系を用いて、CPM 10 mg/kg BW, ADM 1 mg/kg BW の第1日目投与、CDDP 1 mg/kg BW の第2日目投与を1コースとした CAP regimen と CDDP 1 mg/kg BW を第1～3日目に、VCR 0.1 mg/kg BW を第1, 2日目に、BLM 2 mg/kg BW の第2日目投与を1コースとした PVB regimen を第15, 18週に2コース投与し20週で終了する予備実験を行った (Fig. 4)。CAP および PVB いずれの regimen においても膀胱腫瘍の発生頻度は対照群と比較して有意の差異はみられなかったが、1膀胱当りに発生した腫瘍数についてみると CAP regimen の腫瘍発生数は対照群に比較して有意に少ない結果であった (Table 3)。多剤併用療法については実験観察期間や投与する薬剤の用量・用法に関して、今後さらに検討を要するが、BBN を8週間投与するラット膀胱腫瘍実験モデルを用いて検討を行った結果、FT-207+picibanil (OK.432)+ADM の併用や CDDP+BLM+ADM のいずれにもラット膀胱腫瘍発生の抑制効果を示すことが認められている²⁾。今後さらに投与する抗癌剤の用量および投与方法ならびに実験モデルについても検討し、より効果のある副作用の少ない抗癌剤多剤併用療法の短期スクリーニング法の開発と臨床応用への基礎資料を得たいと考える。

今回の単剤投与実験において 5-Fu, FT-207 の 5-Fu 系剤や CQ, VCR および CDDP が有効であった。VCR の2群では総投与量は同じであったが、2日分割投与より1回大量投与が有効であり、CDDP では non-hydration 群では CDDP は有効であったが、hydration 群では無効ときわめて興味深い結果が得られた。しかしながら有効であった群においては、VCR では精細管上皮の、CDDP では尿細管上皮のより著明な脱落・壊死が観察され、今後化学療法を行う上でより副作用の発現が少なく、かく有効な組織内濃度が得られる投与法の工夫が必要と考えられた。

単剤投与実験系において 5-Fu 系剤がラット膀胱腫瘍に対して有効であったことより、副作用が 5-Fu より少なく、長期に継続して経口投与が可能な 5-Fu 関連物質である FT-207, UFT および HCFU の経口投与について検討した結果、UFT および HCFU はきわめてよい成績がえられた^{4,5)}。これらの抗癌剤は生体内で 5-Fu に活性化され全身的な 5-Fu の副作用の発現が低く、また、UFT はより少ない FT-207 含量で 5-Fu 濃度が腫瘍組織内で高く保たれる

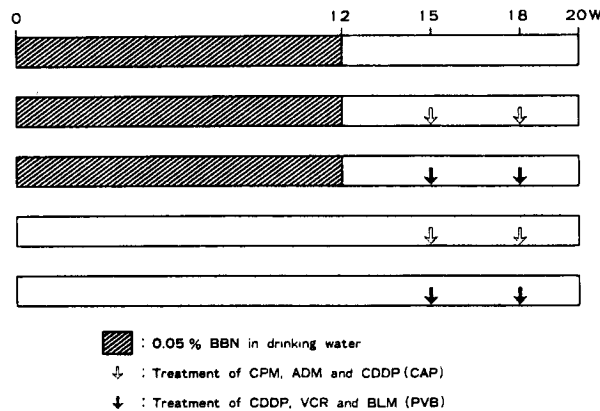


Fig. 4. Experimental design of effects of combination chemotherapy on development of urinary bladder tumors in Fischer rats induced by 0.05% BBN in drinking water for 12 weeks

Table 3. Incidences of urinary bladder tumor in Fischer rats induced by 0.05% BBN in drinking water for 8 weeks and treated with combination chemotherapy (CAP or PVB regimen)

Group	Effective No. of rats	No. of Rats with tumor	No. of Tumor per rats*
BBN alone	24	23 (95.8%)	2.67±1.37**
BBN - CAP	30	25 (83.3%)	1.23±0.86***
BBN - PVB	28	24 (85.7%)	2.36±1.52

*: The average number of tumors (larger than 1mm) per bladder

**: Mean±S.D.

***: Significantly decreased from group 27

などの利点がある。これらの薬剤のごとく生体内で活性化されて効果の発現する抗癌剤の効果判定には *in vitro* の実験系よりは *in vivo* の実験系のほうが有用性が高いといえる。これらの 5-Fu の pre-drugs の臨床応用についてみると、表在性膀胱腫瘍の術後の予防治療に用いられた成績では、FT-207 は TUR-Bt のみの対照群に比較して2年間の比較的短い観察期間内では、有意の再発抑制効果を示さなかったが²⁴⁾、三崎らは HCFU 投与は有意に表在性膀胱腫瘍の術後再発を抑制したと報告している²⁵⁾。UFT についてはわれわれは現在 randomized study で検討中である。5-Fu の pre-drugs に関しては、今回の実験結果と臨床成績が比較的良く相関した結果が得られ、いずれも重篤な副作用の発現がなく長期間の投与が可能であることより、従来の抗癌剤膀胱内注入療法以外の表在性膀胱腫瘍の術後再発予防治療として有用性があることを示唆する結果が得られた。

以上の実験結果より、本法を他の実験的な抗癌剤効果判定法と比較してみると、1)動物実験モデルにおいて、BBN は膀胱のみを標的臓器とし、BBN 膀胱発

癌に関する十分な資料があり、確立された膀胱腫瘍実験モデルであり、ラットの膀胱腫瘍は表在性膀胱腫瘍の良い実験モデルであること、2)動物収容施設以外の設備を必要とせず、技術的にも容易で判定が簡単であること、3) *in vivo* モデルであり薬剤の代謝・体内分布が臨床症例と類似で、同時に薬剤の副作用についても検討ができること、4)培養細胞や移植腫瘍モデルと異なり、より自然な宿主の免疫関与機構を保持していること、5)実験期間が20週と動物実験としては比較的短期に抗癌剤の効果判定ができ、膀胱癌に有効な抗癌剤のスクリーニングとしては *in vitro* の実験系に比較して時間ならびに経費を要することなど種々の長所・短所はあるが、抗癌剤の効果判定には有用な実験法の一つであると考ええる。抗菌剤感受性試験と同等に簡便な有用性のある抗癌剤感受性試験が抗癌剤の効果を判定する究極的な実験的操作と考えられているが、しかしながら副作用や多剤併用などの投与方法の検討などを考慮すると抗癌剤の効果判定法には *in vitro* のスクリーニングとともに *in vivo* の試験も行うことが必要であると考えられる。したがって、より経

済的かつ短期間でスクリーニングができ、ヒト膀胱癌と類似の *in vivo* の実験法の確立が必要であることはいうまでもなく、BBN 実験系のマウス膀胱腫瘍モデルへの適用をはじめ、より短期間で膀胱癌の発生がみられるイスモデルおよびラットでの浸潤性膀胱腫瘍モデルの確立など *in vivo* の実験法の確立には今後検討すべき課題は多い。

ま と め

- 1) BBN を8週間投与するラット膀胱腫瘍実験モデルを用いて抗癌剤の効果判定を行った。
- 2) 抗癌剤単剤投与実験では 5-FU, FT-207, CQ, VCR および CDDP の投与群において膀胱腫瘍の発生頻度が抑生され、ADM, MMC, CPM, NCS および BLM 投与の各群の膀胱腫瘍の発生頻度は対照群と比較して抑制されなかった。
- 3) 抗癌剤の経口投与実験において 5-Fu 関連物質は膀胱腫瘍発生の抑制がみられ、とくに UFT, HCFU 投与群では用量依存的に膀胱腫瘍発生の抑制がみられた。
- 4) BBN を用いたラット膀胱腫瘍実験モデルは、膀胱癌に有効な抗癌剤の *in vivo* のスクリーニング法として有用な実験モデルといえる。

本論文の要旨は第37回日本泌尿器科学会中部総会ラウンド・テーブルで発表した。また本研究の一部は厚生省がん研究助成金の補助を受けたもので、付記して謝意を表する。

文 献

- 1) 岡島英五郎, 平松 侃, 貴宝院邦彦, 伊集院真澄, 平尾佳彦, 小原壮一, 馬場谷勝廣, 田中正己, 丸山良夫: BBN によるラット膀胱腫瘍に対する FT-207 の効果. 第Ⅱ報: 膀胱腫瘍発生過程における FT-207 の経口投与による影響. 癌と化療 9: 473-479, 1982
- 2) 平松 侃, 馬場谷勝廣, 肱岡 隆, 青山秀雄, 大園誠一郎, 田中正己, 橋本雅善, 丸山良夫, 渡辺秀次, 窪田一男, 駒田佐多男, 佐々木憲二, 三馬省二, 末盛 毅, 吉田克法, 岡村 清, 岡島英五郎: 膀胱癌に関する実験的並びに臨床的研究. 泌尿紀要 28: 1553-1569, 1982
- 3) Babaya K, Takahashi S, Momose H, Matsuki H, Sasaki K, Samma S, Ozono S, Hirao Y and Okajima E: Effects of single chemotherapeutic agents on development of urinary bladder tumor induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine (BBN) in rats. Urol Res 15: 329-334, 1987
- 4) 三馬省二, 田畑尚一, 中辻史好, 吉江 貫, 守屋昭, 松木 尚, 渡辺秀次, 馬場谷勝廣, 平尾佳彦, 岡島英五郎: BBN によるラット膀胱腫瘍発生に対する UFT の効果. 癌と化療 12: 1661-1668, 1985
- 5) Ozono S, Iwata H, Tsunemi K, Takahashi S, Matsuki H, Sasaki K, Hirao Y and Okajima E: Effect of 1-hexylcarbonyl-5-fluorouracil on development of rat urinary bladder tumor induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine. Jpn J Exp Med 58: 123-127, 1988
- 6) 石川昌義, 岡島英五郎, 井本 卓, 平松 侃, 伊集院真澄, 伊東信行, 小西陽一, 日浅義雄: 膀胱腫瘍に関する実験的研究. 第1報 N-butyl-N-butanol(4)-nitrosamine 投与によるダイコクネズミの膀胱腫瘍発生について. 日泌尿会誌 60: 99-108, 1969
- 7) Ito N, Hiasa Y, Tamai A, Okajima E and Kitamura H: Histogenesis of urinary bladder tumor induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine in rats. Gann 60: 401-410, 1969
- 8) Ito N, Matayoshi K, Arai M, Yoshioka Y, Kamamoto Y, Makiura S and Sugihara S: Effect of various factors on induction of urinary bladder tumors in animal by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine. Gann 64: 151-159, 1973
- 9) 伊東信行, 荒井昌之: ヒトの癌と動物モデル, 癌の科学 太田邦夫, 杉村 隆, 菅野晴夫編, 第1版, 第4巻 pp. 387-402, 南江堂, 東京, 1979
- 10) Okajima E, Hiramatsu T, Motomiya Y, Kondo T and Hirao Y: Effects of foreign bodies on development of urinary bladder tumors in rats treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine. Urol Res 1: 177-181, 1973
- 11) Okajima E, Hiramatsu T, Iriya K, Ijuin M, Matsushima S and Yamada K: Effects of sex hormones on development of urinary bladder tumors in rats treated with N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine. Urol Res 3: 73-79, 1975
- 12) 打林忠雄: 人膀胱癌由来培養細胞株 KK-47, KW-103 および HeLa 細胞における各種抗癌剤の殺細胞効果について. 日泌尿会誌 74: 1606-1620, 1983
- 13) Hamberger AW and Salmon SE: Primary bioassay of human tumor stem cells. Science 197: 461-463, 1977
- 14) 内藤克輔, 久住治男, 浅利豊紀, 小橋一功, 天野俊康, 打林忠雄: 尿路上皮悪性腫瘍における抗癌剤感受性試験 —human tumor clonogenic assay を中心として—. 泌尿紀要 32: 1959-1966, 1986
- 15) 山内民男, 岡田謙一郎, 吉田 修, 河合恒雄: 膀胱癌の抗癌剤感受性試験—ヌードマウス実験系による—. 泌尿紀要 32: 1949-1958, 1986
- 16) 井上雄弘, 王 毅, 多田敦彦, 上野克己, 小島和子, 小川一誠: マウス腎被膜下移植法 (sub-

- renal capsule assay) による制癌剤感受性の検討. 癌と化療 12: 1644-1650, 1985
- 17) Hirose M, Fukushima S, Hananouti M, Shirai T, Ogiso T, Takahashi M and Ito N: Different susceptibilities of the urinary bladder epithelium of animal species to three nitroso compounds. Gann 67: 175-189, 1976
- 18) Ohtani M, Kakizoe T, Nishio Y, Sato S, Sugimura T, Fukushima S and Nijima T: Sequential changes of mouse bladder epithelium during induction of invasive carcinomas by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine. Cancer Res 46: 2001-2004, 1986
- 19) Okajima E, Hiramatsu T, Hirao K, Ijuin M, Hirao Y, Babaya K, Ikuma S, Ohara S, Shiomi T, Hijioka T and Ohishi H: Urinary bladder tumors induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl) nitrosamine in dogs. Cancer Res 41: 1958-1966, 1981
- 20) Ertürk E, Cohen SM, Price JM and Bryan GT: Pathogenesis, histology and transplantability of urinary bladder carcinomas induced in albino rats by oral administration of N-[4-(5-nitro-2-furyl)-2-thiazolyl] formamide. Cancer Res 29: 2219-2228, 1969
- 21) Hicks RM and Wakefield JStJ: Rapid induction of bladder cancer in rats with N-methyl-N-nitrosourea. I. Histology. Chem Biol Interactions 5: 139-152, 1972
- 22) Oyasu R, Samma S, Ozono S, Bauer KD, Wallemark CB and Homma Y: Induction of high-grade high-stage carcinomas in the rat urinary bladder. Cancer 59: 451-458, 1987
- 23) 大園誠一郎, 平田直也, 妻谷憲一, 駒田佐多男, 佐々木憲二, 小原壮一, 馬場谷勝廣, 平尾佳彦, 岡島英五郎: BBN および MNU 投与による rat 膀胱癌発生の検討. Proceeding of the Japanese Cancer Association 46th Annual Meeting. p. 58, 1987
- 24) Hirao Y, Okajima E, Ohara S, Ozono S, Hiramatsu T, Yoshida K, Yamada K, Aoyama H, Hashimoto M and Watanabe S: Prophylactic treatment for superficial bladder cancer following transurethral resection. Cancer Chemother Pharmacol 20 (Suppl): S85-S90, 1987
- 25) 三崎俊光, 久住治男, 酒井 晃, 中村武夫, 神田静人, 美川郁夫, 宮城徹三郎, 勝見哲郎, 折戸松男, 川口光平, 亀田健一, 北川清隆, 奥村良二, 南後千秋, 宮崎公臣, 島田宏一郎, 竹前克朗, 橋本和夫: 表在性膀胱腫瘍に対する 1-hexylcarbamoil-5-fluorouracil (HCFU) および 1-(2-tetrahydrofuryl)-5-fluorouracil (Tegafur) 剤内服による再発防止効果の比較検討. 泌尿紀要 31: 1233-1241, 1985

(1988年7月11日受付)