

膀胱腫瘍に対する Carboquone の膀胱内 注入療法に関する基礎的研究

—正常 Beagle 犬に対する Carboquone の膀胱内注入による影響について—

奈良県立医科大学泌尿器科学教室（主任：岡島英五郎教授）

岡島英五郎・伊集院真澄・平松 侃
貴宝院邦彦・平尾 佳彦・小原 壮一
肱岡 隆・馬場谷勝広・塩見 努
三馬 省二・窪田 一男・駒田佐多男
佐々木憲二・吉田 克法・岡村 清

FUNDAMENTAL STUDIES ON INTRAVESICAL INSTILLATION OF CARBOQUONE FOR TREATMENT OF URINARY BLADDER TUMORS

—ON THE EFFECTS OF INTRAVESICAL INSTILLATION
OF CARBOQUONE IN NORMAL BEAGLE DOGS—

Eigoro OKAJIMA, Masumi IJUIN, Tadashi HIRAMATSU,
Kunihiko KIHON, Yoshihiko HIRAO, Soichi OHARA,
Takashi HIJIOKA, Katsuhiko BABAYA, Tsutomu SHIOMI,
Shoji SAMMA, Kazuo KUBOTA, Sadao KOMADA, Kenji SASAKI,
Katsunori YOSHIDA and Kiyoshi OKAMURA

*From the Department of Urology, Nara Medical University
(Director: Prof. E. Okajima, M.D.)*

The effects of intravesical instillation of Carboquone at the clinically used doses of 5 and 10 mg on the normal mucosa of female beagle dogs was compared with that of 10 mg Mitomycin C used as the control drug.

Intravesical instillation for 48 hours of 10 mg carboquone/20 ml phosphate buffer solution (PBS) after bilateral cutaneous uretrotomies produced severe inflammatory changes in all layers of the bladder wall. However, no secondary effects were observed in blood laboratory examinations or histological examinations of the whole organ after autopsy. Phosphate buffer solution produced no remarkable secondary effects in animals. Five milligrams carboquone per 20 ml PBS was instilled intravesically once a week for 3 weeks in normal animals. Cystoscopically, the bladder mucosa recovered normally. Blood laboratory examinations showed no abnormal results, but the bladder epithelium had regenerative epithelial hyperplasia and slightly inflammatory changes in the submucosal layers. Two of the three control animals given instillation of 10 mg of Mitomycin C/20 ml PBS had slight leucopenia at 7 days after the last intravesical instillation, but leucocyte count was normal at the end of the experiment. Cytoscopic and histological examination of the epithelium of the urinary bladder

revealed severe inflammatory changes in 2 of the 3 animals.

Key words: Carboquone, Intravesical instillation, Beagle dog

は じ め に

膀胱腫瘍に対する特異的な局所的治療方法である制癌剤膀胱内注入療法は、一般に Stage T₂ までの表在性膀胱腫瘍で拇指頭大までの比較的小さい腫瘍や、TUR-Bt の手術前におこなって腫瘍の縮小をはかるなどの直接的抗腫瘍効果を目的とした膀胱内注入療法と、表在性膀胱腫瘍に対して膀胱保存の手術をおこなった場合に膀胱腫瘍の多中心性発生という特異的な組織発生や、手術時に膀胱内への腫瘍細胞の散布などによると考えられる比較的高頻度に見られる膀胱腫瘍の異所性再発に対する再発予防を目的とした膀胱内注入療法がある。

膀胱内注入療法に用いられる薬剤には Thio-TEPA, Mitomycin C, Epodyl, Adriamycin¹⁻¹¹⁾ および最近では Carboquone¹²⁻¹⁷⁾ があるが、いずれもその抗腫瘍効果が認められているとともに種々の程度の局所的、全身的副作用のあることも報告されている。したがって膀胱内注入療法に用いる薬剤としては膀胱腫瘍細胞に対する抗腫瘍効果があきらかであるとともに、いっぽうでは薬剤による局所的、全身的副作用の少ないことが望ましいのはいうまでもない。

われわれはすでに N-butyl-N (4-hydroxybutyl) nitrosamine によるラット膀胱腫瘍発生に対して Carboquone が抑制効果のあることをあきらかにし、その抗腫瘍効果を示唆する結果を得ている¹⁸⁾。しかし Carboquone を膀胱内注入療法に用いた場合にその副作用に関しては小野ら¹⁷⁾の臨床的副作用の検討結果があるのみでいまだ十分にあきらかにされていない。したがって今回雌性 Beagle 成犬を用いて、臨床的にその副作用の発現程度があきらかにされている Mitomycin C を対照薬剤として Carboquone の膀胱内注入による膀胱粘膜の変化、全身的副作用などについて臨床病理学的に比較検討したのでその結果を報告する。

実 験 材 料

1 実験動物：

生後6～10カ月の雌性 Beagle 犬（富士アニマルファーム、東京）13頭を用いた。

2 薬剤：

Carboquone（注射用エスキノン）（以下 CQ と略す）粉末注射剤 5 mg vial（三共株式会社、東京）。

Mitomycin C（以下 MMC と略す）粉末注射剤 2 mg vial（協和醗酵株式会社、東京）

溶解液としては Phosphate buffer（以下 PBS と略す）pH 7.0-7.3 20 ml ampule 入（三共株式会社）を用い、CQ または MMC の溶解液ならびに対照群の注入液とした。

実 験 方 法

動物は室温20℃に保たれた Beagle 犬専用飼育実験室において1 cage, 1 頭で飼育し、以下の実験群を作成した。

I Beagle 犬空置膀胱内へのCQ 48時間貯留実験空置膀胱作製法：

気管内挿管による GOF 麻酔下にて、開腹手術をおこない、両側尿管を尿管下部において結紮切断し、両側尿管をそれぞれ同側の下腹部皮膚と吻合して両側尿管皮膚瘻形成術を施行した。腹壁を縫合閉鎖したのち膀胱内に Nelaton's Catheter（8号）を挿入し、膀胱内残尿を採取して検尿用資料とした。ついで Phosphate buffer 20 ml で数回膀胱洗浄を施行して空置膀胱を作製し以下に述べるごとく試験薬剤を注入した。

空置膀胱内薬剤注入方法：

CQ 10 mg を PBS 20 ml に溶解した試験薬剤液または PBS 20 ml を、留置してある Nelaton's Catheter より空置膀胱内に全量注入して Catheter を抜去後あらかじめ尿道周囲に通してある6号絹糸にて尿道を速やかに結紮し、膀胱内に薬剤を48時間貯留させた。

実験群は以下の2群を作成した。

第1群：CQ 10 mg を空置膀胱内に48時間貯留させた実験群（3頭）

第2群：PBS 20 ml を空置膀胱内に48時間貯留させた対照群（2頭）

空置膀胱内薬剤48時間貯留実験終了後、全動物は屠殺し、膀胱を中心に全身諸臓器の肉眼的変化を観察したのち10%中性ホルマリン液に固定後病理組織学的にその変化を検索した。

II Beagle 犬膀胱内へのCQ および MMC 注入実験：

CQ 5 mg または MMC 10 mg を溶解液の PBS 20 ml に溶解して全量 20 ml を注入薬剤として使用した。Beagle 犬膀胱内への注入方法は無麻酔下に外陰

部を清拭滅菌後尿道口より Fr. 16 Foley Catheter を挿入して検尿用試料尿を採取したのち約 3 ml の Phosphate buffer で Balloon を膨張させて留置カテーテルとして Catheter を固定牽引して尿道から注入薬剤が漏出しないようにして薬剤を注入した。

薬剤の膀胱内貯留時間は 1 回 60 分とし 60 分後に Catheter を抜去する方法で以下実験群を作製した。

第 1 群：CQ 5 mg を 1 週 1 回，3 週間，計 3 回膀胱内に注入した実験群（4 頭）。

第 2 群：MMC 10 mg を 1 週 1 回，3 週間，計 3 回，膀胱内に注入した対照群（3 頭）。

各実験群および対照群の全動物は薬剤注入終了後 3 週間観察し実験開始前，薬剤注入終了時，薬剤注入終了後 7 日目，14 日目および実験終了時において尿検査，尿培養検査，末梢血液検査，血液生化学検査および膀胱鏡検査などの臨床的諸検査を施行した。なお膀胱鏡検査はイソゾール静脈内投与による麻酔下に施行した。

また全動物は実験期間終了後屠殺し，膀胱，腎および尿管の尿路系臓器を中心に全身諸臓器の変化を肉眼的に観察したのち 10% 中性ホルマリンに固定後，病理組織学的に検索した。

実験結果

各実験群および対照群の膀胱内薬剤注入前後の体重および臓器重量の変化は Table 1 に，尿検査結果，血液像および血液生化学検査結果は Table 2 に示すごとくである。

I. Beagle 犬空置膀胱内への CQ 48 時間貯留実験

本実験群および対照群の薬剤の膀胱内 48 時間貯留前後の体重および臓器重量には著明な変動は認められなかった (Table 1)。

実験群および対照群における薬剤の膀胱内 48 時間貯留前後の尿沈渣検鏡結果では全動物とも実験開始前の

尿所見はまったく清澄で異常所見は認められなかった。実験終了後の膀胱内貯留液の検査結果では，CQ 10 mg 貯留実験群の 3 頭中 3 頭に赤血球および白血球が無数みられ，PBS 貯留対照群の 2 頭には赤血球が多数，白血球が 10-15/1 視野みられたが，両群とも貯留液の細菌培養検査は陰性であった。

血液像および血液生化学的検査結果では両群とも実験終了時の BUN, Creatinine 値に若干の上昇がみられた以外著明な変化は認められなかった (Table 2)。この実験群および対照群における実験終了時の BUN, Creatinine 値の上昇は尿管皮膚瘻術による影響と考えられる。

肉眼的ならびに病理組織学的所見

各実験の各動物の病理組織学的所見は Table 3 に示すごとくである。

CQ 10 mg 空置膀胱内貯留実験群の膀胱所見：

Beagle 犬 No. 1001：膀胱壁は全般に浮腫状に肥厚し，膀胱粘膜は全面にわたり壊死に陥り，黄褐色の膿苔となって剥離し膀胱内面を被覆していた。この膿苔を除去すると高度のびらんを呈し，著明な充血と，浮腫状の粘膜下層が認められた。

膀胱の病理組織学的所見は膀胱三角部，両側壁のいずれの部分においても粘膜の壊死，粘膜下層の浮腫と著明な炎症性細胞浸潤がみられ，その変化は筋層および漿膜にまで波及しているのが認められた。

Beagle 犬 No. 1002：膀胱の肉眼的変化および病理組織学的変化のいずれも Beagle 犬 No. 1001 とまったく同様の所見で，膀胱粘膜の壊死性変化がみられ，びらん状を呈し，著明な膀胱壁の炎症性変化が認められた。

Beagle 犬 No. 1003：Beagle 犬 No. 1001 および No. 1002 の膀胱の肉眼的変化および病理組織学的変化とまったく同様の所見であった (Fig. 1, 2)。

PBS 空置膀胱内貯留実験群の膀胱所見：

Table 1. Changes in body and organ weights

Experimental group	Effective no. of dogs	Body weight (kg)				Organ weights (g)				
		Initial	Final	Kidney right	Kidney left	Bladder	Liver	Spleen	Heart	
I	1. Esquinone 10 mg	3	9.3±0.85	9.0±0.70	32±3.46	31±1.15	18±5.86	243±25.3	17±4.62	90±10
	2. Control	2	7.8±0.64	7.6±0.71	26±5.66	28±2.83	9±1.41	330±14.14	15±7.01	66±8.49
II	1. Esquinone 5 mg	4	8.9±0.86	8.4±1.06	29±5.38	28±4.03	21±10.61	330±30	29±7.19	86±6.56
	2. MMC 10 mg	3	9.7±0.89	8.2±1.01	29±6.11	24±0.58	24±3.69	311±119.0	21±5.29	89±6.43

Table 2. Results of hematology, urinalysis and blood chemistry

Experimental group		Effective no. of dogs	Hematology			Urinalysis						Blood chemistry															
			RBC ($\times 10^4/\text{mm}^3$)	Hb (mg/dL)	Ht (%)	WBC ($/\text{mm}^3$)	RBC*	WBC*	Bacteria	Al-p	GOT	GPT	LDH (IU)	T.P. (mg)	BUN (mg/dL)	Creatinine (mg/dL)	N (mEq/L)	K (mEq/L)	Cl (mEq/L)								
I	1. Esquinone 10 mg	Before experiment	3	624 $\pm$ 7	15.4 $\pm$ 0.4	47	7600 $\pm$ 141	3	0	0	3	0	0	3	7.2 $\pm$ 0.6	27 $\pm$ 7.2	40 $\pm$ 7.8	195 $\pm$ 69.4	5.9 $\pm$ 0.4	15.0 $\pm$ 1.4	0.9 $\pm$ 0.1	141 $\pm$ 3.5	4.1 $\pm$ 0.2	107 $\pm$ 5.4			
	At 48hrs	734 $\pm$ 74		18.5 $\pm$ 3.2	55.5 $\pm$ 4.9	7900 $\pm$ 565	0	0	3	0	0	3	3	0	16.3 $\pm$ 4.6	32 $\pm$ 9.0	37 $\pm$ 11.5	232 $\pm$ 116.8	7.2 $\pm$ 0.7	39.3 $\pm$ 24.8	1.4 $\pm$ 0.2	141 $\pm$ 2.5	4.0 $\pm$ 0.5	100 $\pm$ 6.5			
	2. Control	Before experiment	2	555 $\pm$ 187	12.6 $\pm$ 4.3	29	$\pm$ 11.3	10850 $\pm$ 3889	2	0	0	2	0	0	2	0	9.5 $\pm$ 4.95	30 $\pm$ 9.9	21 $\pm$ 3.6	399 $\pm$ 144	5.5 $\pm$ 1.1	21	$\pm$ 4	0.9 $\pm$ 0.1	144 $\pm$ 9.9	4.5 $\pm$ 0.8	102 $\pm$ 4.2
	At 28hrs 48	562 $\pm$ 121		12.6 $\pm$ 2.5	37.5 $\pm$ 7.8	23400 $\pm$ 5939	0	0	2	0	2	0	1	1	22.5 $\pm$ 6.36	29 $\pm$ 9.2	25 $\pm$ 2.1	115 $\pm$ 53	5.5 $\pm$ 0.1	38.5 $\pm$ 3.5	1.0 $\pm$ 0.2	150 $\pm$ 4.2	3.6 $\pm$ 0.1	109 $\pm$ 5.7			
II	1. Esquinone 5 mg	Before experiment	4	616 $\pm$ 76	15.2 $\pm$ 3.2	47.3 $\pm$ 5.1	6900 $\pm$ 886	4	0	0	4	0	0	4	0	5.5 $\pm$ 1.29	37 $\pm$ 16.6	37 $\pm$ 10.0	353 $\pm$ 47.9	6.5 $\pm$ 0.36	16.3 $\pm$ 4.57	0.9 $\pm$ 0.13	149 $\pm$ 4.0	3.6 $\pm$ 0.54	110 $\pm$ 2.9		
	At the 7 th dsy after instillation	551 $\pm$ 93		13.3 $\pm$ 3.1	41.7 $\pm$ 7.2	8050 $\pm$ 2007	1	1	2	1	1	2	1	3	9.5 $\pm$ 7.72	28 $\pm$ 4.3	21 $\pm$ 9.2	347 $\pm$ 342	6.3 $\pm$ 0.55	16.3 $\pm$ 0.58	0.9 $\pm$ 0.10	145 $\pm$ 4.0	4.0 $\pm$ 0.20	114 $\pm$ 5.7			
	At the end of experiment	621 $\pm$ 83		14.6 $\pm$ 2.1	47.3 $\pm$ 5.7	88800 $\pm$ 2333	1	3	0	2	1	1	1	3	6.3 $\pm$ 1.26	29 $\pm$ 5.3	29 $\pm$ 7.1	208 $\pm$ 107	6.3 $\pm$ 0.49	18.8 $\pm$ 2.63	0.9 $\pm$ 0.12	152 $\pm$ 3.8	4.2 $\pm$ 0.36	112 $\pm$ 6.2			
	2. MMC 10 mg	Before experiment	636		52	9500	3	0	0	3	0	0	3	0	4	$\pm$ 1.4	45 $\pm$ 28.6	113 $\pm$ 117.9	266 $\pm$ 59	6.6 $\pm$ 0.26	15.7 $\pm$ 4.51	0.8 $\pm$ 0.17	152 $\pm$ 2.5	3.9 $\pm$ 0.40	114 $\pm$ 3.5		
	At the 7 th dsy after instillation	3	704 $\pm$ 70	17.3 $\pm$ 5.6	52	$\pm$ 2.5	8300 $\pm$ 7514	1	1	1	2	1	0	1	2	9.7 $\pm$ 8.1	25 $\pm$ 11.5	28 $\pm$ 14.4	127 $\pm$ 46	7.2 $\pm$ 1.51	403 $\pm$ 43.89	1.0 $\pm$ 0.26	146 $\pm$ 6.1	4.6 $\pm$ 0.38	104 $\pm$ 7.5		
	At the end of experiment		665 $\pm$ 93	16.3 $\pm$ 2.1	49	$\pm$ 6.8	13033 $\pm$ 8258	1	2	0	2	1	0	1	2	7.3 $\pm$ 3.1	33 $\pm$ 11.8	31 $\pm$ 21.2	333 $\pm$ 187	6.7 $\pm$ 0.87	23	$\pm$ 8.89	0.7 $\pm$ 0.06	147 $\pm$ 5.6	4.3 $\pm$ 0.64	108 $\pm$ 6.2	

* RBC, WBC : $\begin{cases} - : < 0 \sim 5/F \\ + : 5 \sim 10/F \\ \# : 11/F < \end{cases}$

Table 3. Histological findings of the urinary bladder

Urinary bladder	Dog - number	Method of instillation											
		Esquinone 10mg 48hrs.			Phosphate buffer 48hrs.		Esquinone 5mg/WX3				MMC 10mg/WX3		
		1001	1002	1004	1003	1005	1016	1017	1018	1021	1019	1022	1023
Trigone	Mucosa	Exfoliation	##	##	##	+	-	-	+	+	-	##	-
		Necrosis	##	##	##	-	-	-	-	-	-	-	-
		Edema				+	-	+	+	-	+	+	
		Others					BN (+) Hyp (+)	BN (+) Hyp (+)				Calc (+)	
	Submucosa	Edema	##	##	##	+	+	+	+	+	+	+	+
		Inflammation	##	##	##	+	+	+	+	##	+	##	##
		Necrosis	##	##	+			-	-	-	-	Ulc (+)	
		Others						-	-	-	Gran (+)	Gran (+)	
Lateral wall (left)	Mucosa	Exfoliation	##	##	##	-	-	-	+	##	-	##	-
		Necrosis	+	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
		Edema				+	+	+	+		+		-
		Others		Dysp (+)			Hyp (+)	Hyp (+)		Gran (+)	Dysp (+)	Calc (+)	
	Submucosa	Edema	##	##	##	+	+	+	+	##	+	##	+
		Inflammation	##	##	##	+	+	##	+	##	+	##	##
		Necrosis	±	+	-	-	-	-	-			##	-
		Others	Hem (+)	Hem (+)						Gran (+)			
Lateral wall (right)	Mucosa	Exfoliation	##	##	##	-	-	-	-	##	-	##	-
		Necrosis	##	+	##	-	-	-	-	-	-	-	-
		Edema				-	-	+	+	##	+		-
		Others		Dysp (+)			Hyp (+)						
	Submucosa	Edema	##	##	##	+	+	+	+	##	+	##	+
		Inflammation	##	##	##	+	+	+	+		+	##	##
		Necrosis	##	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
		Others		Hem (+)	-					Gran (+)	Dysp (+)	Gran (+)	-
Renal pelvis		Edema	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
		Inflammation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+ : Mild change

: Moderate change

: Severe change

BN : Brunn's nest Hem : Hemorrhage

Hyp : Hyperplasia Calc : Calcification

Dysp : Dysplasia Gran : Granulation

Ulc : Ulcer

Beagle 犬 No. 1004: 膀胱漿膜面からの肉眼的所見に異常はなかったが、膀胱粘膜面では膀胱後壁部に著明な浮腫が認められた (Fig. 3). 病理組織学的所見では部分的に粘膜上皮の脱落と上皮細胞の軽度の浮腫性変化がみられ、粘膜下組織でも同様に著明な浮腫性変化 (Fig. 4) と軽度の炎症変化がみられるが筋層および漿膜部には異常は認められなかった。

Beagle 犬 No. 1005: 膀胱漿膜側の浮腫や膀胱壁の肥厚などの変化はみられなかったが、膀胱粘膜では膀胱三角部に粘膜の発赤があり、膀胱粘膜全体に著明な浮腫が認められた。病理組織学的所見では粘膜上皮の脱落はまったく認められなかったほかは Beagle 犬 No. 1004 とまったく同様の結果であった。

他臓器の変化:

実験群および対照群の各動物のいずれにおいても軽度の腎盂、尿管の炎症性変化がみられたが、そのほかの全身諸臓器には肉眼的にも病理組織学的にも著明な変化は認められなかった。

II. Beagle 犬膀胱内への CQ および MMC 注入実験

本実験群の第1群CQ注入およびMMC注入群の実験開始前と実験終了時の体重の変動は第1群においてはほとんど変動なく、第2群では平均体重で約1.5 kg の減少が認められた。両群の実験終了時の臓器重量には差はみられなかった (Table 1)。

尿所見では第1群および第2群ともに薬剤による炎症がみられた。この炎症は実験終了時には軽快する傾向にあるが、なお尿中白血球(+), 尿中細菌陽性のものがみられた。なお両群の尿所見に差はなかった (Table 2)。

血液像、血液生化学検査結果では両群ともに実験開始前から実験終了時までの経時的変動はほとんどみられなかったが、第2群のMMC注入群の注入終了後1週間目において3頭中2頭の白血球数が $3,000 \sim 5,000 / \text{mm}^3$ と若干減少する傾向があった。しかし、2週間後および実験終了時においてすべて正常値に回復していた (Table 2)。

なお第2群のMMC 10 mg 3回膀胱内注入群3頭中1頭 (No. 1022) はMMC膀胱内注入終了後19日目に全身衰弱により死亡したが、剖検ならびに全身諸臓器の病理組織学的検索では、膀胱を除く全身諸臓器に著明な変化は認められなかった。

膀胱の経時的膀胱鏡所見の変化と病理組織学的検索結果については以下に述べるごとくである。なお概要は Table 3 に示した。

第1群 CQ 5 mg 3回膀胱内注入群:

Beagle 犬 No. 1016: 膀胱鏡所見の経時的変動に

ついてみるとCQ 3回注入終了時に膀胱右後壁の粘膜の浮腫状腫脹と発赤がみられたが、注入終了1週間後においても同様の所見で改善の傾向はなかったが、実験終了時には膀胱粘膜全体に軽度の充血様所見があるのみで、粘膜の変化は回復しているのが認められた。

剖検時の摘出膀胱の肉眼的所見では膀胱粘膜全体に軽度の浮腫と充血がみられ、左側壁に小出血斑、両側壁に膿苔の付着が認められた。

病理組織学的検索では膀胱粘膜上皮は軽度の浮腫と部分的な Hyperplasia がみられ、三角部膀胱粘膜では Brun's nest の形成が認められた。

粘膜下組織では浮腫および軽度の炎症性細胞浸潤がみられるが、筋層および漿膜部には全く異常は認められなかった。

Beagle 犬 No. 1017: CQ 注入3回注入終了時には膀胱鏡にて膀胱粘膜全面に、注入終了1週間後においては膀胱後壁に局限して膀胱粘膜の浮腫状変化と膿苔の付着するのが認められた。

しかし注入終了2週間後にはこれらの変化は左壁の一部を除いてほぼ消失し、実験終了時には膀胱粘膜全面にわたり軽度の発赤がみられるのみでほとんど正常の所見に回復していた (Fig. 5~8)。

剖検時膀胱の肉眼的所見では膀胱粘膜が軽度の浮腫状充血がみられ、左側壁に出血斑が認められた (Fig. 13)。

病理組織学的検査結果では膀胱左壁、および三角部の一部において粘膜上皮の浮腫と脱落がみられ、残存粘膜部では Hyperplasia を示すところがあり (Fig. 14)、三角部では Brun's nest の形成が認められた。粘膜下組織では軽度の浮腫と炎症性細胞浸潤がみられたが筋層および漿膜部には異常は認められなかった。

Beagle 犬 No. 1018: 膀胱鏡所見の経時的変化についてみると、CQ 注入3回終了時においては膀胱粘膜の充血が著明であったが、注入終了後1週間後では発生した出血性膀胱炎のため膀胱内景の観察が不能であった。注入終了後2週間後では膀胱粘膜は浮腫状で充血がなお著明に認められた。注入終了3週間後においては膀胱粘膜の全般に充血がみられたが回復傾向を示していた。

摘出膀胱の肉眼的所見では膀胱粘膜は全般に浮腫状で、膀胱右壁ならびに左壁の一部に著明な充血と小出血斑を認めるのみであった。

病理組織学的検査結果では部分的に膀胱粘膜上皮の脱落がみられ、一部では壊死巣を形成していたが、その部位では肉芽の増生もありあきらかに修復過程が認められた。

粘膜下組織には強い炎症性細胞浸潤がみられ、筋層および漿膜部にも浮腫と軽度の炎症性変化が認められた。

Beagle 犬 No. 1021：膀胱鏡所見の経時的変化ではCQ 3回注入終了時において膀胱後壁の粘膜の発赤と膿苔の付着がみられ、注入終了1週間後では膀胱粘膜は出血性変化が著明で多数の壊死組織が認められ、炎症性変化が進行していた。注入2週間後では高度の炎症性変化のため膀胱内景の観察は不能であった。

実験終了時の膀胱鏡検査では膀胱粘膜の発赤は著明ではあったが炎症性変化はかなり回復していた。剖検時の膀胱の肉眼的所見では膀胱粘膜は全体に浮腫状で、小出血斑が多数認められた。

病理組織学的検査所見では膀胱粘膜上皮は粘膜剝離が比較的広範にみられるとともに壊死巣の形成と肉芽の増生が認められ幾分の修復傾向がみられた。粘膜下組織には強い炎症性細胞浸潤がみられ、筋層および漿膜部にも中等度の炎症性変化と軽度の浮腫が認められた。

第2群 MMC 10 mg 3回膀胱内注入群：

Beagle 犬 No. 1019：膀胱鏡所見の経時的変化についてみると、MMC 3回注入終了時には膀胱粘膜全体の軽度の発赤および出血がみられたが、注入終了1週間後では出血性膀胱炎のため膀胱内の観察は不能であり、注入終了2週間後においては膀胱鏡は可能であったが膀胱粘膜は全体に浮腫および出血性変化が強く実験終了時においても膀胱容量は20 mlで膀胱粘膜は浮腫状で出血が著明に認められた (Fig. 9~12)。

剖検時の膀胱の肉眼的所見では、膀胱粘膜は浮腫状で膀胱粘膜全体に出血性変化が著明であった (Fig. 15)。

病理組織学的検査結果では膀胱鏡所見および剖検時肉眼的所見に比較して軽度で、粘膜上皮は浮腫状で一部では軽度のDysplasiaと考えられる所見がみられた (Fig. 16)。

粘膜下組織では中等度の炎症性細胞浸潤と軽度の浮腫および出血がみられたが、筋層および漿膜部での著変は認められなかった。

Beagle 犬 No. 1022：膀胱鏡所見の経時的変化についてみるとMMC 注入3回終了時において膀胱粘膜全体に発赤がみられ、注入終了1週間後および2週間後においては全身的衰弱が強く死亡したが、剖検時の膀胱の肉眼的所見では膀胱粘膜が全面に膿苔が付着し一部ではあきらかに粘膜剝離が認められた。

病理組織学的検査結果では膀胱粘膜上皮は全体に剝離し、潰瘍を形成して壊死巣を認めたが、一部には肉

芽の増生をともなう修復過程が認められた。粘膜下層では浮腫と炎症性細胞浸潤が著明にみられ、一部には壊死巣も認められた。また中等度の炎症性変化は筋層および漿膜部にも波及していた。

Beagle 犬 No. 1023：膀胱鏡所見の経時的変化についてみると、MMC 注入3回終了時において膀胱粘膜全体に浮腫状変化、出血斑および膿苔の付着があり注入終了後1週間後および2週間後では約2 kgの著明な体重減少があったため膀胱鏡は施行しなかったが、体重の回復した実験終了時では膀胱粘膜の浮腫状変化と充血を認めるのみで炎症性変化の回復が認められた。

剖検時の膀胱の肉眼的所見では膀胱粘膜に軽度の浮腫性変化と全面に小出血斑を認めるほか著明な変化は認められなかった。

病理組織学的検査結果では粘膜上皮は浮腫がみられたが粘膜上皮の剝離はほとんどなく粘膜下組織には軽度の浮腫と出血および中等度の炎症性細胞浸潤があるが、筋層および漿膜部への波及は認められなかった。

考 察

CQは、エチレンイミノキノン系のアルキル化剤であり、MMCやTrenimonに類似した構造式を有し、実験的にはマウスリンパ性白血病L-1210に対して優れた抗腫瘍効果を示すのみならず、その他の実験的腫瘍に抗腫瘍性を有することが確認されており、さらに臨床的にも造血臓器や固型癌に対しても有効とされている^{19,20)}。CQの静脈内投与による有効量は、MMCの有効量と比較した場合、MMCの1/4量とされている。いっぽう、尿路系腫瘍に対するCQの効果については、われわれはN-butyl-N-(4-hydroxy-butyl) nitrosamineによるラット膀胱腫瘍発生に対して、CQが抑制効果を示し、CQは膀胱腫瘍の化学療法に有用性のあることを報告した¹⁸⁾。

表在性膀胱腫瘍(Stage Ta-T₁)に対して、経尿道的電気切除術(TUR-Bt)または膀胱部分切除術を施行した場合に、手術時の腫瘍の取り残しは別としても、手術時に膀胱粘膜上皮の非腫瘍部に顕微鏡的レベルの腫瘍性変化がすでに発生している。手術時の膀胱内への腫瘍細胞の播種、および尿中へ発癌物質の排泄などの原因が存続することなどによって、膀胱内で異所性に高率に再発することはよく知られており、その再発予防対策として種々の治療方法がおこなわれている²¹⁾。

表在性膀胱腫瘍に対する治療、あるいは表在性膀胱腫瘍の術後の再発予防的治療として制癌剤膀胱内注入

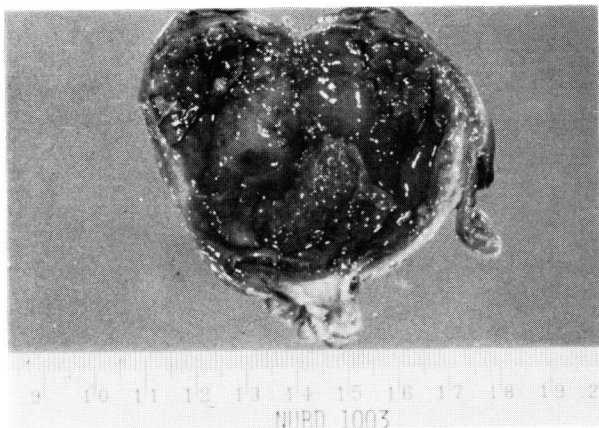


Fig. 1. Gross appearance of bladder lumen of dog no. 1003 after 48 hours of intravesical retention of 10 mg carboquone. Thickness of the bladder wall and hemorrhage and necrosis of mucosa are seen in all areas of the urinary bladder

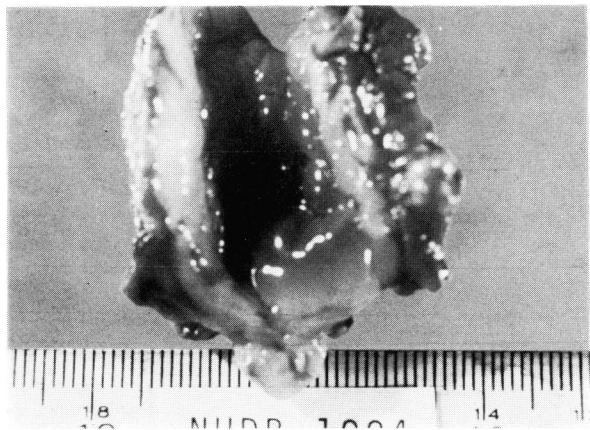


Fig. 3. Gross appearance of bladder lumen of dog no. 1004 after 48 hours of intravesical retention of 20 mg phosphate buffer. Edema of the bladder mucosa is seen at the posterior wall

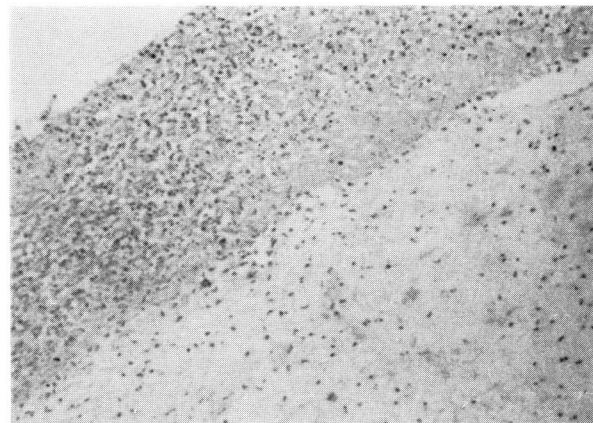


Fig. 2. Necrotic change of the bladder epithelium, edema and inflammatory cell infiltration are observed (HE stain $\times 40$)

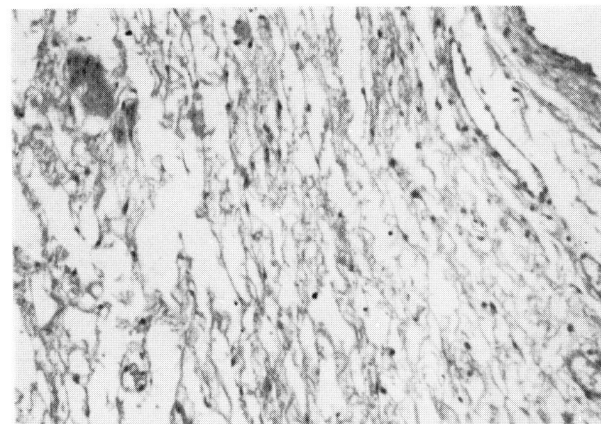


Fig. 4. Severe edema of the submucosal layer of the urinary bladder wall is observed. (HE stain $\times 40$)

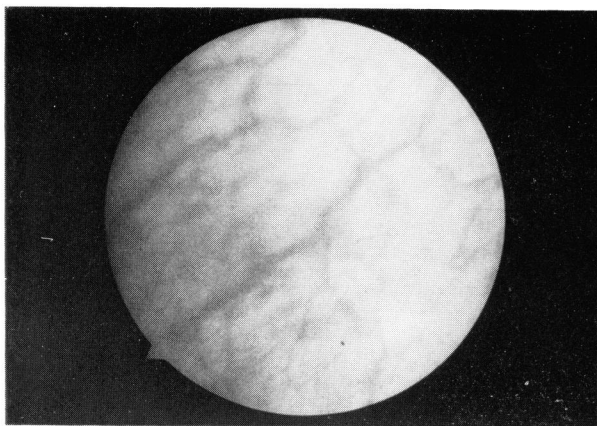


Fig. 5. Cystoscopic appearance of dog no. 1017 before the experiment

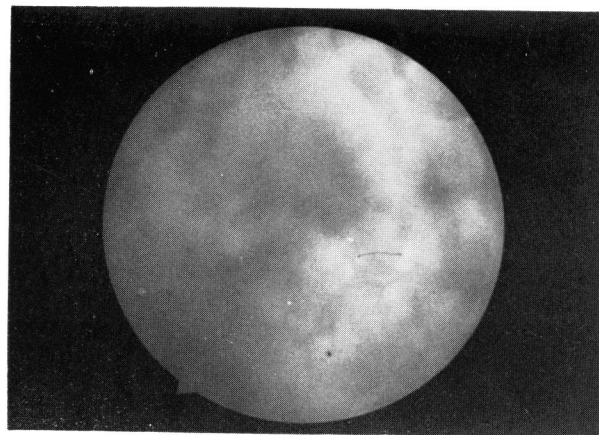


Fig. 6. Cystoscopic appearance of dog no. 1017 when examined just after 3rd intravesical instillation of 5 mg carboquone. Hyperemia and edema of the bladder mucosa are seen

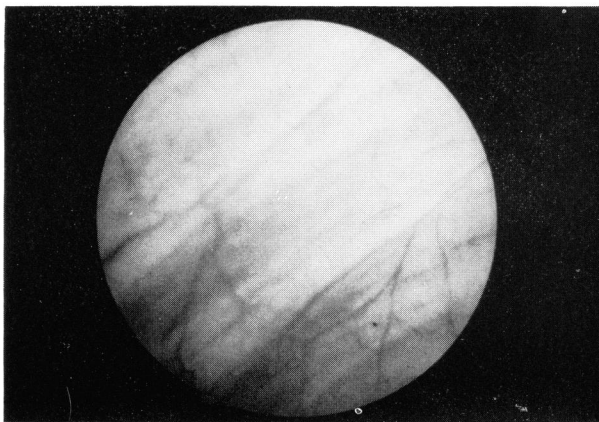


Fig. 7. Cystoscopic appearance of dog no. 1017 at 2 weeks after 3 intravesical instillations of 5 mg carboquone. The bladder mucosa is normal in appearance

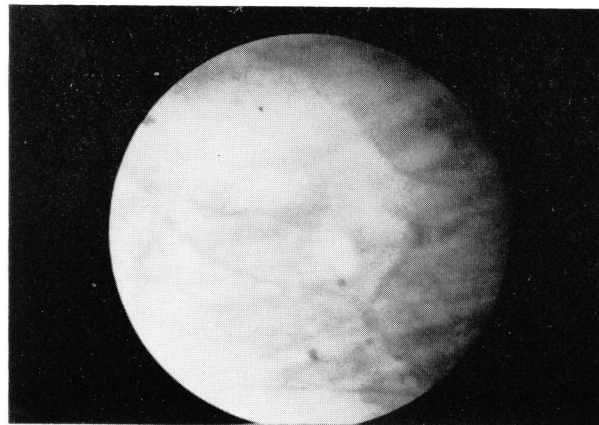


Fig. 8. Cystoscopic appearance of dog no. 1017 at the end of experiment. The bladder mucosa is normal in appearance

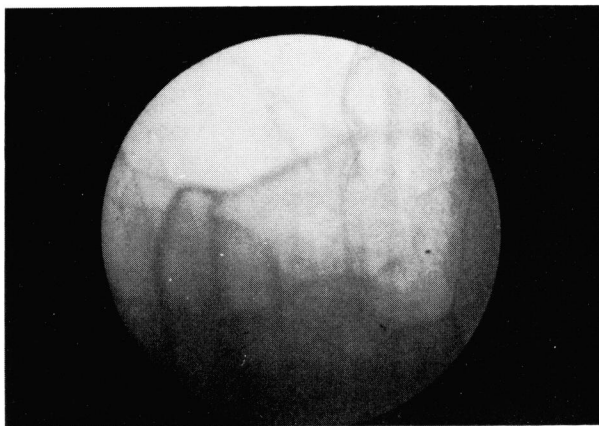


Fig. 9. Cystoscopic appearance of dog no. 1019 before the experiment

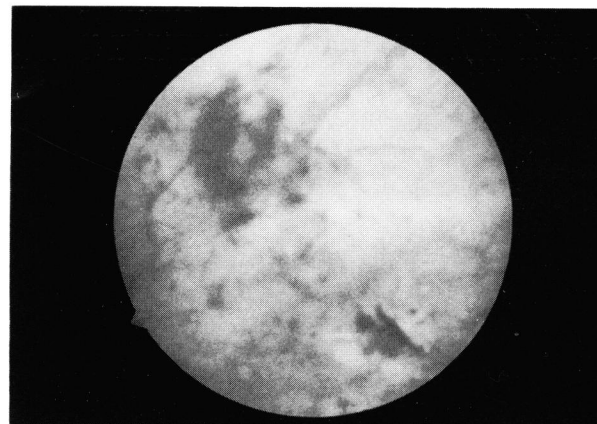


Fig. 10. Cystoscopic appearance of dog no. 1019 examined just after 3rd intravesical instillation of 10 mg mitomycin C. Hyperemia and small bleeding areas are seen in the bladder

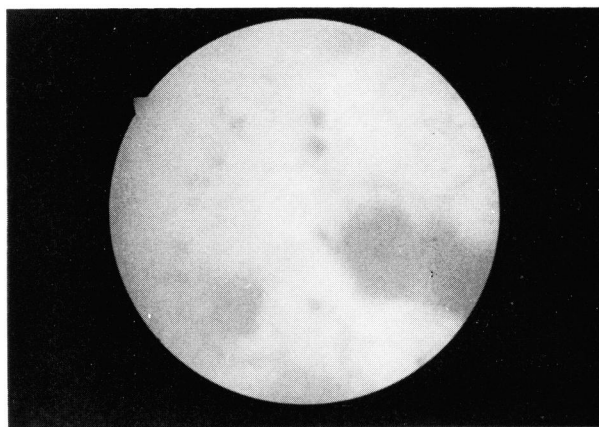


Fig. 11. Cystoscopic appearance of dog no. 1019 at 2nd week after 3rd intravesical instillations of mitomycin C 10 mg. Hyperemia and small bleeding areas are seen in the urinary bladder

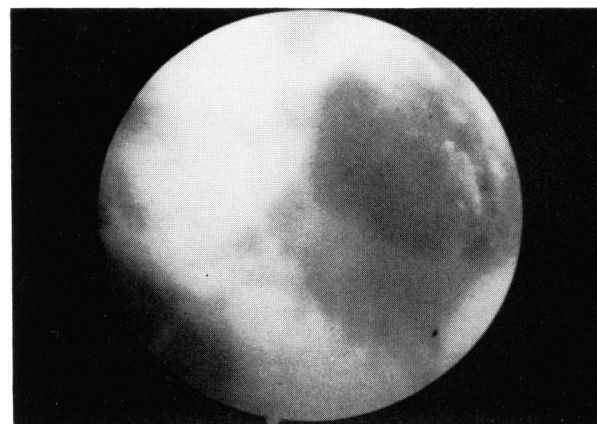


Fig. 12. Cystoscopic appearance of dog no. 1019 at the end of experiment. Hyperemia and edema are seen in the urinary bladder

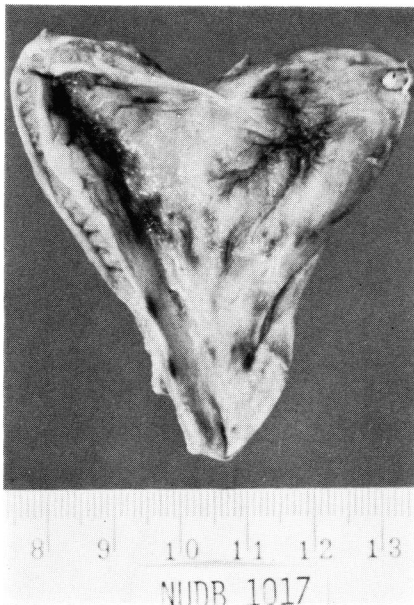


Fig. 13. Gross appearance of bladder lumen of dog no. 1017 after fixation with 10% buffered formalin solution

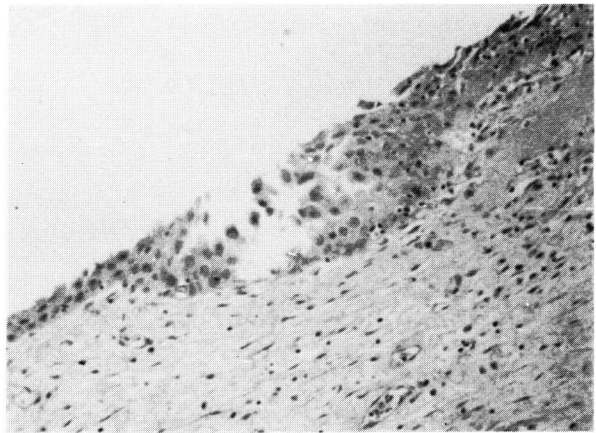


Fig. 14. Some areas of hyperplasia of transitional cell epithelium are observed in the urinary bladder of dog no. 1017 (HE stain $\times 100$)

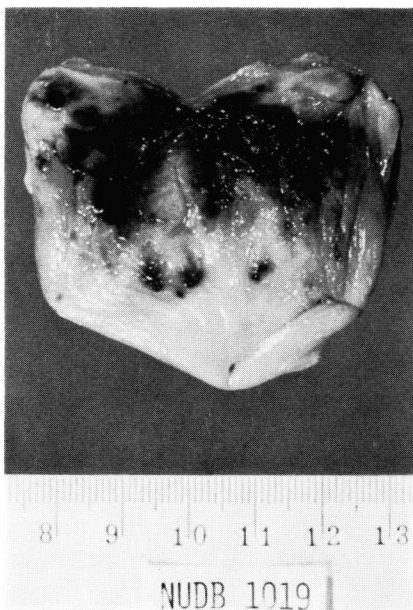


Fig. 15. Gross appearance of bladder lumen of dog no. 1019 after fixation with 10% buffered formalin solution

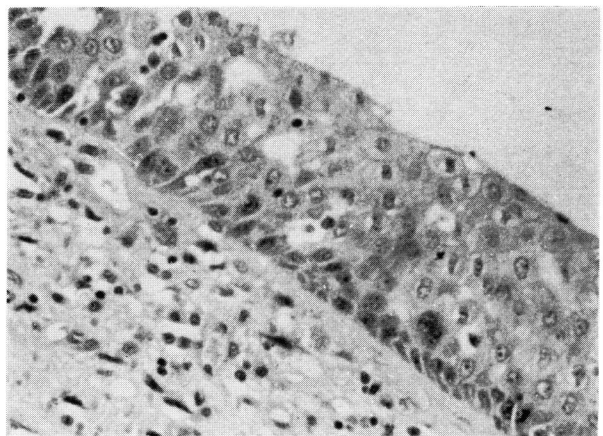


Fig. 16. Diffuse hyperplasia with atypical cells of transitional cell epithelium are observed in the urinary bladder of dog no. 1019 (HE stain $\times 200$)

療法がおこなわれ、その有用性に関する報告は多いが、最初の報告は Semple²¹⁾の膀胱乳頭腫に対する podophilin の膀胱内注入で、その後は Jones ら¹⁾の Thio-tepa の報告以来、MMC, Adriamycin (ADM) および Epodyl などが用いられている²⁻¹⁷⁾。

最近、本邦において膀胱腫瘍の治療に際してCQを膀胱内に注入して、膀胱腫瘍に対して抗腫瘍効果のあることが報告されている¹²⁻¹⁷⁾。

一般に、制癌剤を膀胱腫瘍の局所的療法としての膀胱内注入療法に用いる場合、その制癌剤が膀胱腫瘍に有効であることはもちろんのこと、そのほか膀胱からの吸収による全身の毒性、正常粘膜上皮細胞と腫瘍細胞への制癌剤のとり込み、注入薬剤の濃度と量、膀胱での尿の pH などによる薬剤の安定性、膀胱局所への毒性、長期連用による膀胱局所への発癌性の問題など多くの基礎的検索結果をもとに、膀胱内注入療法として有用性のある薬剤かどうかを決定しなければならず、さらに臨床応用による at random な治療成績をもとにその有効性が確認されてのちはじめて広く用いられるべきものであると考える。Thio-tepa および ADM などは、膀胱粘膜の透過性や吸収などに関する報告があり^{22,23)}、また at random な臨床成績によってその有効性も評価されている¹⁴⁾。MMC については、小川^{6,24,25)}は家兎、犬および臨床例を用いての血中ならびに組織内濃度、組織学的変化、抗腫瘍効果および副作用などについての基礎的臨床的検討をおこない、表在性腫瘍に有効であり、吸収は少なく全身的副作用は軽度であるが、40 mg/20 ml の連日注入では局所の膀胱炎症状がほとんどの症例にみられたと報告している。われわれのおこなった再発予防治療としての MMC 膀胱内注入療法施行例においても高率に膀胱炎症状の発生が認められているが²⁷⁾、Thio-tepa に比較して全身性の毒性が少なく、膀胱内注入薬剤として有用性があるとされている²⁸⁾。

膀胱腫瘍に対するCQの膀胱内注入療法に関しては、1回量 5~10 mg のCQを 10~100 ml の希釈用緩衝液、または生理食塩水に希釈して膀胱内注入がおこなわれ、34.5~58.0%の有効率であることが報告されているが、抗腫瘍効果が得られた投与量と投与回数は、1回 5~10 mg 投与で、総投与量は10回 50~100 mg とするものが多い¹²⁻¹⁷⁾。このようにCQは膀胱腫瘍に対する抗腫瘍効果のあることが示され、またCQの膀胱内注入による全身的副作用についても血液学的、血液化学的検査成績にほとんど影響がみられていない。しかし、膀胱刺激症状などの局所的副作用が比較的高率にみられており、萎縮膀胱の発生も報告されてい

る^{12,15,16)}。われわれはCQを膀胱腫瘍の再発予防治療として長期連用の有用性について検討する目的で、今回はCQの副作用に関する基礎的資料を得るために Beagle 犬を用いてCQの膀胱内注入による影響を検索し、また臨床的にもその有用性が評価されている MMC の Beagle 犬膀胱内注入による影響と比較検討した。今回の実験におけるCQは臨床使用量を用い、連用注入実験では 5 mg を用いたが、MMC 投与量はCQの抗腫瘍効果に対応する有効投与量の 1/2 量である 10 mg を用いて比較検討した。

空置膀胱における CQ 10 mg の48時間注入では、膀胱粘膜上皮は壊死に陥り、脱落して炎症性変化は漿膜まで波及していたが、血液所見および膀胱以外の全身諸臓器の肉眼的、病理学的所見には異常は認められず、また溶解液の PBS のみの注入によっては膀胱粘膜上皮に著明な影響は認められなかったことより、溶解液の PBS は膀胱粘膜局所にまったく影響せず、CQは局所膀胱粘膜上皮に影響するが全身的副作用はほとんどないことがあきらかとなった。

CQ 5 mg の週 1 回、3 週間連続膀胱注入実験においても、MMC 10 mg 週 1 回、3 週間連続膀胱内注入群と比較して、MMC 注入群では 3 頭中 2 頭において末梢白血球数が 3,000~5,000/mm³ と若干減少傾向を示したのに対して、CQ注入群では血液および血液化学的諸検査結果においてもまったく変化が認められなかった。いっぽう、週 1 回の間歇的膀胱内注入 3 回投与では膀胱粘膜上皮への影響はきわめて軽度で、CQ注入群では 3 頭全例において注入終了時にみられた膀胱粘膜上皮の炎症性変化は、注入終了後 3 週間の実験終了時にはほとんど回復するのが認められた。また病理組織学的にも膀胱粘膜上皮の脱落や肥厚が軽度のみられ、粘膜下組織の炎症性細胞浸潤も軽度で、3 頭中 2 頭において筋層や漿膜まで波及するものもみられたが回復傾向を示していた。MMC 注入群では 1 頭において MMC 注入後 2 週後に死亡し、膀胱粘膜上皮は剝離して潰瘍形成がみられ、病理組織学的に炎症性変化が膀胱漿膜面まで波及しているのが認められたが、他の 2 頭においてはCQ注入群とほぼ同様の所見であった。

以上のごとく、CQの膀胱内注入による全身的、ならびに局所的副作用についてみると、MMC と比較した有効投与量の倍量のCQを投与して MMC と比較検討した場合においても、MMC と同程度あるいは若干軽度のものであり、膀胱内注入による副作用発生の予防処置の併用などの膀胱局所への副作用に注意して使用するならば、CQは MMC と同様に表在性膀胱

腫瘍の膀胱内注入療法および膀胱保存的手術後の再発予防治療としての膀胱内注入療法に有用性のある薬剤と考える。なお、10回から20回以上の連日大量膀胱内注入療法や、長期連用における副作用については今後の検討を要すると考える。

む す び

CQの膀胱内注入療法による副作用の発生についてMMCを対照薬として雌性Beagle犬を用いてCQ5mgおよび10mgの臨床投与量で膀胱内注入実験をおこない、以下の成績を得た。

1. 空置膀胱内へCQ 10 mg/20 ml PBSの48時間貯留実験において、CQによる膀胱壁全層にわたる炎症性変化の発生が認められたが、血液、血液化学的諸検査結果および全身諸臓器の病理組織学的検索結果からは、全身的副作用の発生は認められなかった。また、溶解液のPBSの局所的および全身的副作用はまったく認められなかった。
2. CQ 5 mg/20 ml PBSを週1回、3週間3回膀胱内注入実験において、注入終了後3週間の実験終了時には、血液、血液化学的諸検査結果に変化はみられず、膀胱局所は内視鏡的には回復傾向がいちじるしく、病理組織学的には粘膜下組織に軽度の炎症性細胞浸潤がみられ、3頭中2頭に筋層および漿膜層に浮腫と軽度の炎症性変化が認められたのみであった。膀胱粘膜上皮には再生過程と考えられる粘膜上皮過形成がみられた。
3. MMC 10 mg/20 ml PBSを週1回、3週間3回膀胱内注入群においては、3頭中2頭において、注入終了後7日目に末梢白血球数が若干減少傾向を示したが、実験終了時には正常値に回復していた。膀胱鏡所見は3頭中1頭は回復傾向が認められたが、他の2頭においては、膀胱鏡所見においても、病理組織学的所見においてもいちじるしい炎症性変化が認められた。

本論文の要旨は、第17回日本癌治療学会総会において報告した。本実験に際して、ご協力をいただいた三共製薬株式会社に心から感謝致します。

文 献

- 1) Jones HC and Swinney J: Thiotepa in the treatment of tumors of the bladder. *Lancet* 2: 615~618, 1961
- 2) Veenema RJ, Dean AL, Roberts M, Fingerhut B, Chowhury BK and Tarassoly H: Bladder carcinoma treated by direct

- instillation of thio-tepa. *J Urol* 88: 60~63, 1962
- 3) Abassian A and Wallace DM: Intracavitary chemotherapy of diffuse non-infiltrating papillary carcinoma of the bladder. *J Urol* 96: 461~465, 1966
- 4) Pavone-Macaluso M: Chemotherapy of vesical and prostatic tumors. *Brit J Urol* 43: 701~708, 1971
- 5) 志田圭三・島崎 淳・高橋富朋・栗原 寛・佐藤 仁・田谷元佑・黒沢 功: 膀胱癌の治療と予後(附)マイトマイシンCの腔内注入療法の成績. 癌の臨床 16: 737~744, 1970
- 6) 小川秀彌: 膀胱癌に対する抗腫瘍剤マイトマイシンCおよび放射性同位元素 ^{32}P の膀胱内注入療法(Ⅳ)MMC膀胱内注入に関する臨床的研究. 日泌尿会誌 60: 746~755, 1969
- 7) 侃山哲郎: 膀胱癌に対する抗腫瘍剤膀胱内注入療法の臨床的研究. 日泌尿会誌 63: 497~518, 1972
- 8) Mishina T, Oda K, Murata S, Ooe H, Mori Y and Takahashi T: Mitomycin C bladder instillation therapy for bladder tumors. *J Urol* 114: 217~219, 1975
- 9) Riddle RR and Wallace DM: Intracavitary chemotherapy for multiple non-invasive bladder tumors. *Brit J Urol* 43: 181~184, 1971
- 10) Robinson MRG, Shetty MB, Richards B, Bastable J, Glashan RW and Smith PH: Intravesical epodyl in the management of bladder tumors: Combined experience of the Yorkshire Urological Cancer Research Group. *J Urol* 118: 972~973, 1977
- 11) Soloway MS: Rationale for intensive intravesical chemotherapy for superficial bladder cancer. *J Urol* 123: 461~466, 1980
- 12) 小幡浩司・瀬川昭夫・鈴木茂章・深津英捷・吉田和彦・浅野晴好・加藤次朗・岡 直友: 膀胱腫瘍に対するCarboquoneの膀胱内注入療法. 泌尿紀要 22: 761~766, 1976
- 13) 土田正義・熊谷太郎: 膀胱腫瘍に対するCarboquoneの膀胱内注入療法. 泌尿紀要 22: 263~272, 1976
- 14) 和志田裕人・上田公介・渡辺秀輝・渡 仲三: 膀胱腫瘍に対するCarboquoneの膀胱内注入療法

- 組織学的ならびに電子顕微鏡学的検討—。泌尿紀要 23: 567~583, 1977
- 15) 荻須文一: 膀胱腫瘍に対するカルバジールキノン(エスキノン)の膀胱内注入療法。泌尿紀要 25: 215~222, 1979
- 16) 加野資典・鷺山和幸・武居哲郎・百瀬俊郎・馬場恒男: 糖負荷併用による Carboquone 膀胱内注入療法。西日泌尿 41: 661~665, 1979
- 17) 小野 浩・広本宣彦・中津 博・碓井 亜・藤井元広・相模浩二・畑地康助・鵜飼麟三・仁平 寛・福重 満・平山多秋・松木 暁・梶尾克彦・白石恒雄・林 睦雄: 膀胱腫瘍に対する Carboquone 膀胱腔内注入療法の基礎的, 臨床的検討。泌尿紀要 26: 619~627, 1980
- 18) 岡島英五郎・平松 侃・岡本政和・貴宝院邦彦・伊集院真澄・平尾佳彦・小原壮一・馬場谷勝廣・窪田一男・三馬省二・岡村 清・金子佳照・堀井康弘・守屋 昭: BBN によるラット膀胱腫瘍発生に対する Esquinone (Carboquone) の効果。癌と化学療法 9: 836~842, 1982
- 19) Arakawa M, Aoki T and Nakao H: Effects of carbazilquinone on lymphoid leukemia L 1210. GAMM 61: 485~493, 1970
- 20) Arakawa M, Nakao H and Aoki T: Effects of carbazilquinone on transplantable and primary tumors in mice. GANN 61: 535~539, 1970
- 21) Semple JE: Papillomata of bladder treated with podophyllin. Preliminary report. Brit med J I: 1235~1237, 1948
- 22) Pavone-Macaluso M, Gebbia N, Biondo F, Bertolini S, Carmia G and Rizzo F: Permeability of the bladder mucosa to thiotepa, adriamycin, and daunomycin in men and rabbits.
- 23) Cole DR, Howley T, Rowan R, Dreyer B, Tan YL, Gonzalez E and Rousselot LM: Absorption and activity studies on intraluminal thio-tepa in the dog bladder. J Urol 94: 556~558, 1965
- 24) 小川秀彌: 膀胱腫瘍に対する抗腫瘍剤マイトマイシンCおよび放射性同位元素 ^{32}P の膀胱内注入療法 (I) マイトマイシンおよび ^{32}P の膀胱内注入に関する基礎的研究 (血中濃度)。日泌尿会誌 60: 717~723, 1969
- 25) *idem*: 膀胱腫瘍に対する抗腫瘍剤マイトマイシンCおよび放射性同位元素 ^{32}P の膀胱内注入療法。 (II) MMC の膀胱内注入療法に関する基礎的研究。 *idem* 60: 724~727, 1969
- 26) *idem*: 膀胱腫瘍に対する抗腫瘍剤マイトマイシンCおよび放射性同位元素 ^{32}P の膀胱内注入療法。 (III) MMC および ^{32}P の膀胱内注入に関する基礎的ならびに臨床的研究 (組織学的変化)。 *idem* 60: 728~745, 1969
- 27) 岡島英五郎・本宮善恢・伊集院真澄・生間昇一郎・小原壮一・脇岡 隆: 膀胱癌の化学療法—表在性膀胱腫瘍の再発に対する予防的治療方法の検討。日本臨床 35: 1987~1991, 1977
- 28) Soloway MS: Concept in the treatment of bladder cancer—clinical and experimental. 泌尿紀要 28: 1539~1551, 1982

(1983年3月25日受付)