

## 表在性膀胱腫瘍に対するレンサ球菌製剤, OK-432 による局所療法および OK-432 と腫瘍との共通抗原性

岩手医科大学泌尿器科 (主任: 久保 隆教授)

藤岡 知昭, 白石 正彦, 丹治 進, 小池 博之  
鈴木 薫, 熊谷 幸三, 青木 光, 佐久間芳文  
大 堀 勉, 久 保 隆

後藤医院 (院長: 後藤康文)

安 達 雅 史, 後 藤 康 文

### LOCAL IMMUNOTHERAPY WITH STREPTOCOCCAL PREPERATION, OK-432 IN SUPERFICIAL BLADDER TUMORS, AND COMMON ANTIGENS BETWEEN OK-432 AND THE TUMOR

Tomoaki FUJIOKA, Masahiko SHIRAIISHI, Susumu TANJI,

Hiroyuki KOIKE, Kaoru SUZUKI, Kohzo KUMAGAI,

Hikaru AOKI, Yoshibumi SAKUMA, Tsutomu OHHORI and Takashi KUBO

*From the Department of Urology, Iwate Medical University School of Medicine*

Masashi ADACHI and Yasunobu GOTOH

*From Gotoh Hospital*

In 38 patients with superficial bladder, local immunotherapy with streptococcal preperation OK-432 has been performed. We investigated whether OK-432 was an effective biological response modifier (BRM) against bladder tumors or not, and the relationship between the common antigens which OK-432 shared with the tumors, and antitumor effects of OK-432. In six out of 28 patients treated by intravesical instillation, and three out of 10 cases treated by intratumor injection, tumors were eliminated endoscopically. In the other patients, the tumors did not change. The PAP study using an anti-OK-432 antibody, showed a positive reaction in 66.7% of the instillation cases and in 40.0% in the injection cases. In 66.7% of the patients with the common antigens treated by the instillation and in 75.0% of patients with the antigens treated by the injection, tumors were eliminated. However, the PAP study showed a positive reaction in 9.1% of the no-change cases treated by the instillation and in 14.3% out of the no-change cases treated by the injection. We concluded that OK-432 was a favorable BRM for topical immunotherapy against bladder tumor and the presence of the common antigens between OK-432 and tumor may enhance the immune response of patients and promote tumor regression.  
(Acta Urol. Jpn. 35: 253-257, 1989)

**Key words:** Bladder tumor, Immunotherapy, OK-432, Common antigens

#### 緒 言

表在性膀胱腫瘍に対する膀胱注入療法は、経尿道的腫瘍切除などの術後の再発予防と上皮内癌 (CIS:

carcinoma in situ) を主に腫瘍自体に対する直接的抗腫瘍効果を目的に広く試みられており、thiotepa, アドリアマイシン (ADM), マイトマイシン (MMC) などの抗癌剤や BCG (bacillus Calmette-Guerin)

Table 1. Stage and grade in all patients with bladder tumor given OK-432 local immunotherapy

| OK-432 treatment | Stage |    | Grade |    |     |
|------------------|-------|----|-------|----|-----|
|                  | Ta    | T1 | I     | II | III |
| Intravesical     |       |    |       |    |     |
| Instillation     | 14    | 14 | 12    | 12 | 4   |
| Intratumor       |       |    |       |    |     |
| Injection        | 8     | 2  | 3     | 7  | 0   |

などの BRM (biological response modifiers) を用いた良好な成績が報告されている<sup>1)</sup>。今回著者は、表在性膀胱腫瘍症例においてレンサ球菌製剤、OK-432 (ピンパニール, 中外製薬) の膀胱注入および経尿道的腫瘍局注の局所投与を施行し、膀胱癌に対する抗腫瘍効果を治療後の腫瘍消失の有無として検討したので報告する。さらにこれら症例において免疫組織細胞化学により OK-432 と腫瘍組織との間に抗原交差反応性が存在するか否かを検索し、その抗原の存在と抗腫瘍効果との関係を合わせて考察した。

## 対象と方法

対象は、経尿道的膀胱腫瘍切除術 (TUR-Bt) 施行を予定した男性30例、女性8例の stage Ta および T1 の表在性膀胱癌38例であり、平均年齢は 62.7 歳 (40~39歳) であった。その28例にOK-432 5KE (乾燥菌体として 0.5 mg)/20 ml 生食を5日間連続膀胱内注入、また他の10例にこの 10 KE/2 ml 生食の経尿道的腫瘍内局注を1回施行した (Table 1)。腫瘍内局注は腫瘍の基部の数箇所に膀胱鏡の観察下に 26 G 内視鏡用局注針 (オリンパス) により施行した。さらに治療終了10日後、内視鏡検査によりその治療効果を判定し、また同時に残存腫瘍の TUR-Bt を施行した。なお抗腫瘍効果は腫瘍が消失した場合を有効 (complete response CR)、他の場合を不変および進行とした。またこれら治療前の cold punch 生検により得たパラフィン包埋切片に対して、OK-432 の原料である group A streptococcus Su 株を抗原とし、ウサギを免疫し作製した抗 OK-432 抗体 (抗 Su 抗体) を一次抗体とした peroxidase-antiperoxidase (PAP) 法により OK-432 と膀胱腫瘍との間に存在する抗原交差反応性すなわち共通抗原に関し検索した<sup>2)</sup>。

なお膀胱腫瘍の stage および grade は「膀胱癌取り扱い規約」に従った<sup>3)</sup>。

PAP 法<sup>4)</sup>: 脱パラフィン後の 3  $\mu$ m の切片を、0.3 % methanolic H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> および正常ウサギ血清で処理

することにより内因性 peroxidase を破壊し、かつ組織内 IgG の Fc receptor による非特異反応を防止した。10 倍希釈ウサギ抗 OK-432 抗体と24時間、二次抗体である20倍希釈ブタ抗ウサギ免疫グロブリン血清 (DAKO) で30分、最後に100倍希釈 peroxidase rabbit anti-peroxidase complex 血清 (DAKO) と30分間、それぞれ湿潤容器内で反応させた。なお各抗体処理の後には Tris 緩衝生食でよく洗浄し、未結合の余分な抗体を取り除いた。最後に AEC (3-amino-9-ethyl carbazol) 液で発色後、ヘマトキシレンで核染色しグリセロールゲラチンにより包埋した。標本の10%以上が染色された場合を陽性、他の場合を陰性と判定した (Fig. 1)。この染色は triplicate で行い、各々の PAP 施行時に、陽性対照として methanol 固定した OK-432 菌体を、また陰性対照として剖検時に得たヒト正常筋組織切片を同時に染色した。

## 結 果

### 1. OK-432 膀胱局所投与

5日間連日 OK-432 膀胱注の終了後10日目には28症例中6例 (21.4%)、また内視鏡下に OK-432 腫瘍内局注後10日目に10例中3例 (30.0%) で、内視鏡的に腫瘍が消失し、これらを有効と判定した。他の症例はすべて不変で、進行した症例はなかった。また OK-432投与 38例全例で、膀胱粘膜の発赤および脱落は認められず、腫瘍部の境界が明確であった。この膀胱注の有効例中5例は Ta、他の1例は T1 であり、また局注の有効例中2例は Ta、1例は T1 であり、これら有効例は全例 grade 1 であった (Table 2)。

組織学的検査において、OK-432 局所投与施行後の多所生検切片において、非腫瘍部に著明な膀胱上皮の剝離を認めなかった。また TUR により得た切除切片において、内視鏡的に腫瘍の消失を認めた9例全例で組織学的にもその残存を認められなかった。なおこれら切除切片において、間質および腫瘍内リンパ球、形質細胞および好中球の円形細胞浸潤を認めたがこれらの所見は OK-432 治療前にもかなりの頻度で認められることより、これらの所見より OK-432 の抗腫瘍効果を判定することはできなかった。

### 2. OK-432 と膀胱腫瘍との抗原交差反応性

OK-432 局所投与を施行した38例中、抗 OK-432 抗体により PAP 陽性反応を示した症例、すなわち OK-432 抗原を認めた症例は8例 (21.1%) であった (Fig. 1)。次にこの OK-432 抗原と OK-432 の治療効果との関係を検討した。膀胱施行28例中、OK-432 抗原陽性は6例であり、この陽性例中4例 (66.7%)

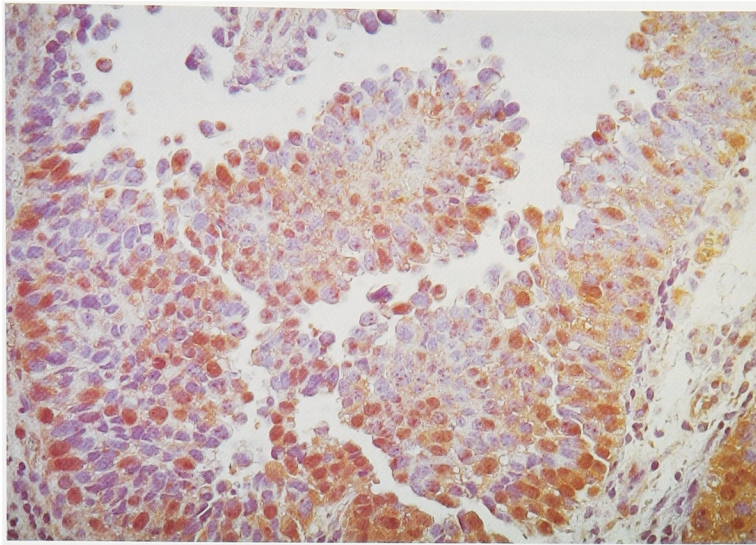


Fig. 1. A photomicrograph of biopsy specimen before OK-432 therapy shows tumor cells stained to be red-brown by the PAP method using anti-OK-432 serum as the 1st antibody.

は有効例であった。一方、膀注有効例6例中この抗原陽性例は4例(66.7%)である反面、不変例22例中OK-432抗原陽性例は9.1%(2例)であった。またOK-432局注施行10例中、4例で抗OK-432抗原の存在を認め、うち3例(75.0%)は有効例であった。この有効3例中2例(66.7%)においてはOK-432抗原陽性である反面、不変例7例では14.3%でこの抗原陽性であった(Table 3)。

### 3. OK-432 局所療法の副作用

今回の症例において、頻尿および排尿痛などの膀胱刺激症状を訴えた例はなかった。また腫瘍内局注例の2例(20.0%)で38°C以上の発熱をみたが、いずれも一時的なもので鎮痛解熱剤の投与により対処できた。その他、OK-432局所投与前後において、血液一般、血清、腎機能および肝機能の検査値上いずれも著明な変化は認めなかった。

## 考 察

泌尿器科領域、特に膀胱腫瘍に対するOK-432の使用経験に関する報告は、今日、すでに表在性膀胱癌の治療および再発防止の重要な手段として広く用いられているBCGの膀胱内注入療法と比較し、極めて少なくその評価も一定しない。すなわち膀胱癌に対するOK-432局注および膀注の有効率は諸家によりまちまちで14.3%より25.0%と報告されており<sup>5,6)</sup>、BCG膀注療法における有効率、すなわち上皮内癌以

Table 2. Results of local immunotherapy with OK-432 in superficial bladder tumors

|       | Complete Responders/Total No. of Pts.(%) |                      |
|-------|------------------------------------------|----------------------|
|       | Intravesical instillation                | Intratumor injection |
| Stage |                                          |                      |
| Ta    | 5/14 (35.7%)                             | 2/8 (25.0%)          |
| T1    | 1/14 ( 7.1%)                             | 1/2 (50.0%)          |
| Grade |                                          |                      |
| I     | 6/12 (50.0%)                             | 3/3 (100%)           |
| II    | 0/12 ( 0%)                               | 0/7 ( 0%)            |
| III   | 0/ 4 ( 0%)                               | —                    |

Table 3. Relationship between antitumor effects of local treatment with OK-432 and common antigens and the bladder tumors

|                             | with antigens | without antigens |
|-----------------------------|---------------|------------------|
| (Intravesical instillation) |               |                  |
| Complete response (n=6)     | 4 (66.7%)     | 2 (33.3%)        |
| No change (n=22)            | 2 ( 9.1%)     | 20 (90.9%)       |
| (total)                     | 6             | 22               |
| (Intratumor injection)      |               |                  |
| Complete response (n=3)     | 2 (66.7%)     | 1 (33.3%)        |
| No change (n=7)             | 1 (14.3%)     | 6 (85.7%)        |
| (total)                     | 3             | 7                |

外の表在性腫瘍で30~70%の症例で腫瘍消失が得られたとする報告<sup>7-12)</sup>と比較して必ずしも満足できるものではなく、OK-432による治療効果は限られたもの

である。今回の症例における成績、すなわち OK-432 膀胱注では21.4%、その腫瘍内局注で30.0%の症例での腫瘍消失は、前述の諸家の OK-432 の成績と比較し劣るものではなく、また今回の局所投与が、5回連日膀胱または1回のみ局注である点を考慮すれば、OK-432 は膀胱癌に対して有効な BRM であると考えられる。今後投与方法・スケジュールおよび投与量の検討によりその治療効果の改善の可能性が示唆された。

また BCG 膀胱療法において90%以上の症例において出現する排尿困難、頻尿、血尿などの膀胱炎症状や膀胱粘膜下の granulomatous inflammatory response<sup>12)</sup> が、OK-432 の局所投与において認められなかった。内視鏡的に腫瘍部の境界が鮮明となる所見は特記するものであり、OK-432 の抗腫瘍作用は MMC や ADM の膀胱効果が表皮の脱落・剥離であるとする報告<sup>14), 15)</sup>とは別の作用機序によるものであると考えられる。

1987年、Fujita は、OK-432 局注後の TUR-Bt 後の再発が有意に減少したことを報告している<sup>16)</sup>。今後、OK-432 の再発防止に関する研究が注目される。

また移行上皮癌の抗原性は以前より良く知られている<sup>17)</sup>。著者は、各種細菌と腫瘍細胞との間に存在する抗原交差反応性およびその共通抗原を介する抗腫瘍効果に関して研究を進めている。すなわち、すでに薬剤誘発マウス膀胱腫瘍 (MBT) モデルにおいて、免疫組織細胞化学により MBT と共通抗原の存在を確認した細菌群 (*Corynebacterium parvum* および *Staphylococcus aureus*) のマウス膀胱癌 MBT 発育抑制作用は著明で、共通抗原の存在を認めない細菌群 (*Escherichia coli* および *Pseudomonas aeruginosa*) との間には、その抗腫瘍効果の程度に有意差を認めたことを報告している<sup>18)</sup>。また PAP 法により OK-432 と各種実験腫瘍およびヒト膀胱移行上皮癌をはじめとする尿路性器悪性腫瘍との間に共通抗原が存在することを<sup>2)</sup>、さらに *in vitro* の実験において、この共通抗原性および抗体依存性細胞媒介細胞傷害 (ADCC) を介する抗腫瘍効果について報告している<sup>2)</sup>。今回の表在性膀胱腫瘍症例においても、抗 OK-432 抗体を一次抗体とした PAP 法により、OK-432 と腫瘍との間の抗原交差反応性および OK-432 の抗腫瘍効果について検討した。すなわち表在性膀胱腫瘍38症例の23.6%において、OK-432 との間に共通抗原を認め、この抗原陽性例の90.0%において OK-432 局所療法により腫瘍の消失を認めた。またこの膀胱有効例の66.7%、この

無効例の9.1%で OK-432 抗原陽性であり、一方 OK-432 局注例においては、有効例の66.7%、無効例の14.3%においてこの抗原陽性であった。よって OK-432 局所免疫療法による効果発現に、膀胱腫瘍内に OK-432 との共通抗原が存在することが必須の条件ではないものの、この抗原の存在は OK-432 の抗腫瘍効果の程度に影響を与える一因になっていることが示唆された。

## 結 語

OK-432 が膀胱腫瘍に対し有効な BRM であるか否かの検討のため、表在性膀胱腫瘍38症例に対し OK-432 の膀胱またはその経尿道的腫瘍内局注を施行し、その10日後の抗腫瘍効果を判定した。また OK-432 と腫瘍との間の抗原交差反応性の存在と抗腫瘍効果との関係も併せて検討した。

1) 有効例は膀胱28例中6例、局注10例中3例であり、他の症例はすべて不変であった。これら有効全例は grade I, おおの1例を除く症例はすべて Ta であった。

2) OK-432 抗体を一次抗体とした PAP 陽性反応は膀胱例の66.7%、局注例の40.0%で認め、これら抗原陽性例中膀胱例では66.7%、局注例では75.0%の症例で、腫瘍の消失を認めた。一方、不変例においても、膀胱の9.1%、局注の14.3%の症例で抗 OK-432 抗原を認めた。

3) OK-432 の局所投与は膀胱腫瘍に対し有効であり、OK-432 と腫瘍との共通抗原の存在は、この抗腫瘍効果の発現の一因であることが示唆された。

本研究の一部は1985年度圭陵会学術振興会、研究助成24号の助成によった。付記して謝意を表する。

## 文 献

- 1) Maldazys JD and deKernion JB: Management of superficial bladder tumors and carcinoma in situ. In: Genitourinary cancer management. Edited by deKernion JB and Paulson DF. pp33-58, Lea & Febiger, Philadelphia, 1987
- 2) 藤岡知昭: 各種腫瘍とレンサ球菌製剤 (OK-432) との共通抗原性. 日泌尿会誌 76 1784-1794, 1985
- 3) 日本泌尿器科学会, 日本病理学会編: 泌尿器科・病理, 膀胱癌取り扱い規約. 金原出版, 東京, 1980
- 4) Sternberg LA: The unlabeled antibody peroxidase antiperoxidase (PAP) method. In: Immunocytochemistry. pp107-167, Willy Medical Publication, New York, 1979

- 5) Kagawa S, Ogawa K, Kurokawa K and Uyama K: Immunological evaluation of a streptococcal preparation (OK-432) in treatment of bladder carcinoma. *J Urol* **122**: 467-270, 1978
- 6) 西尾正一, 井関達男, 仲谷達也, 和田誠次, 堀井昭範, 安本享二, 前川正信: 膀胱癌に対する局所注入療法について, 第2報: OK-432 局注療法の効果. *泌尿紀要* **26**: 1485-1499, 1980
- 7) Morales A, Eidinger D and Bruce AW: Intracavitary bacillus Calmette-Guerin in the treatment of superficial bladder tumors. *J Urol* **116**: 180-183, 1986
- 8) Kelly DR, Ratliff TL, Catalona WC, Shapiro A, Lage JM, Bauer WC, Haaff EO and Dresner SM: Intravesical bacillus Calmette-Guerin therapy for superficial bladder cancer: Effect of bacillus Calmette-Guerin viability on treatment results. *J Urol* **134**: 48-53, 1985
- 9) deKernion JB, Haung MY, Linder A, Smith RB and Kaufman JJ: The management of superficial bladder tumors and carcinoma in situ with intravesical bacillus Calmette-Guerin. *J Urol* **133**: 598-601, 1985
- 10) 萩原正道, 浅野友彦, 飯ヶ谷知彦, 塚本拓司, 西田一巳: 表在性膀胱腫瘍に対する BCG 膀胱注療法の検討. *日泌尿会誌* **77**: 1623-1630, 1986
- 11) 早川正道, 秦野 直, 斎藤史郎, 宮里朝矩, 仲山寛, 五十嵐正道, 才田博幸: 表在性膀胱腫瘍に対する BCG 膀胱内注入療法—BCG 局所療法による宿主の免疫反応. *日泌尿会誌* **78**: 1972-1981, 1987
- 12) 内田豊昭, 村山雅一, 五十嵐正道, 小林健一, 真下節夫, 石橋 晃, 小柴 健, 渋谷宗則: 膀胱腫瘍に対する *Bacillus Calmette-Guerin* 膀胱内注入療法. *日泌尿会誌* **78**: 2087-2097, 1987
- 13) Lamm DL, Stogdill VD, Stogdill BJ and Crispen RG: Complication of bacillus Calmette-Guerin immunotherapy in 1,278 patients with bladder cancer. *J Urol* **135**: 272-274, 1986
- 14) Murphy WM, Soloway MS and Finnebaum PJ: Pathological changes associated with topical chemotherapy for superficial bladder cancer. *J Urol* **126**: 461-464, 1981
- 15) 藤岡知昭, 石井延久, 千葉隆一: Adriamycin 膀胱注入療法の病理組織学的検討. *泌尿紀要* **29**: 869-873, 1983
- 16) Fujita K: The role of adjunctive immunotherapy in superficial bladder cancer. *Cancer* **59**: 2027-2030, 1987
- 17) O'Toole C, Stejskal V, Perlman P and Karlsson M: Lymphoid cells mediating tumor-specific cytotoxicity to the urinary bladder. *J Exp Med* **139**: 457-466, 1974
- 18) 藤岡知昭: 薬剤誘発マウス膀胱腫瘍と *Corynebacterium parvum* との間における抗原性の検討. *日泌尿会誌* **74**: 560-565, 1983
- 19) 藤岡知昭, 丹治 進, 小池博之, 熊谷幸三, 青木光, 久保 隆, 大堀 勉: マウス実験腫瘍に対するリンパ球と抗レンサ球菌抗体による抗腫瘍活性. *日癌治* **23**: 1243-1247, 1988

(1988年8月1日迅速掲載受付)