—原 著—

ヌードマウス移植膀胱癌株に対する昇圧併用 2 種制癌剤の治療実験

秋間 秀一・吉田 和弘・坪井 成美・堀内 和孝

日本医科大学泌尿器科学教室

Evaluation of the chemotherapy of a transplantable bladder
tumour strain (NM-B-1) by two anti-cancer drugs in
combination with a pressor agent in nude mice

Shuichi Akima, Kazuhiro Yoshida, Narumi Tsuboi and Kazutaka Horiuchi

Department of Urology, Nippon Medical School

The anti-cancer effects of either Cis-diammine (Glycolato) platinum II (CDGP-II), a novel platinum derivative, or ifosfamide (IFX) on bladder carcinoma strain NM-B-1 inoculated in nude mice were examined. These chemotherapeutic agents were compared with each other in terms of their inhibitory effect on tumor growth, their histology, and the concentration of each agent in the blood, tumor tissue, liver and kidneys.

(1) The tumor growth was inhibited by CDGP-II in all three different dosage groups ($p < 0.05$), but not by IFX ($p > 0.05$). These results were also confirmed by histological examination.

(2) The amount of CDGP-II (30 mg/kg) in the tumor tissue increased in a time-dependent manner, while in the blood plasma and kidney tissue, it decreased. Total value (TV) and active metabolite (AML) of IFX (500 mg/kg) were examined. TV in the tumor tissue decreased in a time-dependent manner. AML could not be detected. There was no change of AML in the blood plasma, liver, and kidneys.

(3) Transmigration of single loading of CDGP-II or IFX with Angiotensin II (AT-II) from blood into the tissue was examined. CDGP-II in the blood plasma, tumor, liver and kidneys increased in a time-dependent manner. After single administration of IFX, TV decreased in the blood plasma, tumor, liver and kidneys, while AML increased in the blood and kidneys ($p < 0.01$).

(4) The results suggest that CDGP-II may have an anti-tumor effect on NM-B-1. However, the effect can not be enhanced under the influence of a pressor chemotherapeutic agent. IFX did not show anti-tumor properties even after treatment with AT-II. These results may be due to a metabolic defect of IFX within the tumor tissue in vivo. In addition, it can be emphasized that, in the pressor chemotherapeutic trials, it is important to evaluate the concentration of the angiotensin-II receptor in tumor tissues.

Key words: CDGP-II, ifosfamide, angiotensin II, TCC, nude mouse

ざまな実験が行われ、制癌剤感受性試験においては、ヌードマウス移植ヒト悪性腫瘍の感受性試験の成績が臨床に応用されている。新しい抗癌剤の開発、進歩はめざましく、シスプラチン誘導体である Cis-diammine (glycolato) platinum II (CDGP-II, 254S, 塩野義製薬, 大阪) については、ヌードマウス移植ヒト膀胱癌株 (NM-B-1) に対し制癌剤感受性をみられることが報告^{1,2)}されている。一方, Ifosfamide (IFX) は cyclophosphamide (CPA) 類似の構造をもつアルキル化剤で肝臓にて活性化される。その作用は CPM に類似するが副作用が少なく、尿路生殖器系腫瘍への効果が期待されている。最近の報告³⁻⁸⁾では、アンギオテンシンIIを併用することにより抗癌剤の効果増強が得られる例が示されている。本研究では、第1に膀胱腫瘍株に対するヌードマウス背部皮下移植法を用いた CDGP-II, IFX の薬剤感受性を腫瘍増殖抑制曲線および組織学的治療効果において検討する。第2に、CDGP-II および IFX 単独1回投与時の腫瘍組織内濃度、血漿内濃度、さらに主要臓器である肝、腎組織内薬剤濃度を測定する。第3に、アンギオテンシンII (AT-II, Peptide Institute Inc., 大阪) 併用時の CDGP-II, IFX 1回投与時の血漿内濃度、腫瘍組織内濃度、肝・腎組織内濃度を測定し、CDGP-II, IFX 単独1回投与群との間の組織移行性を比較検討する。

研究材料および方法

(1) 研究材料

1977年、ヒト膀胱腫瘍より腫瘍片を採取し、ビニールアイソレーター内で雄性ヌードマウス (BALB/C-nu/nu) 背部皮下に移植後、SPFで継代移植を続けてきた株であり、1988年より SPF 条件下で6～8週齢の雄性ヌードマウス背部皮下に継代移植している。本研究における腫瘍株の移植法は、腫瘍片を無菌的に摘出し、HamF-12培養液中に浸漬、移植直前に約2mm角の立方体に細切したのち、この腫瘍片をトラカール針にてヌードマウス背部皮下に移植した。NM-B-1の移植生着率はほぼ100%で、腫瘍増殖能はコントロール群(3群)において一定した増殖を示す (Fig. 1) と

ともに、継代移植後もその原腫瘍の組織像の特徴を維持している。ヌードマウス移植株 (NM-B-1) の組織像は、角化不全 (dyskeratosis) を伴う扁平上皮癌の方向に分化した未分化な移行上皮癌 (transitional cell carcinoma) である (Fig. 5)。

(2) 研究方法

1) CDGP-II, IFX 投与法および腫瘍増殖曲線

CDGP-II は、腫瘍片をヌードマウス背部皮下への移植日を day 0 とし、day 1, day 5, day 9 において、CDDP にて行った実験⁹⁾に準じて2.5mg/kg, 5.0mg/kg, 10.0mg/kg (総投与量7.5mg/kg, 15mg/kg, 30mg/kg) を単独腹腔内に投与した。対象群の作成は、各実験群に用いたと同量の生理食塩水を腹腔内投与した。IFX 投与は腫瘍移植後の day 1 より5日間投与とした。投与量については、マウスへの最大投与量 (LD50: 600～800mg/kg) を考慮し、50mg/kg, 100mg/kg (総投与量250mg/kg, 500mg/kg) とした。各実験群はそれぞれ5匹とし、1週毎に体重測定と移植腫瘍の長径 (L), 短径 (W) を測定した。腫瘍体積は $1/2 \times L \times W^2$ にて計算し、その測定値の対数変換から平均値 ± 標準偏差 (M ± SD) を求め、腫瘍増殖曲線を作成した。

2) CDGP-II および IFX 単独投与群、ならびに CDGP-II, IFX および AT-II 併用投与における薬剤の組織内濃度

i) CDGP-II の測定は、薬剤投与後30分および60分の血漿 (0.5ml), ならびに腫瘍、肝・腎の生体組織 (0.3g) の各試料を混酸 (硝酸、過塩素酸、硫酸 = 24:24:1) で湿式分解したのち、白金ーピロリジンジチオカルバメート錯体としてメチルイソブチルケトン溶媒で抽出し、測定波長265.9nm 吸光度を測定^{10,11)}した。

ii) IFX は CPA と同様に、masked form となっており、生体内では肝臓で分解したのち活性化される。IFX の測定は、CDGP-II の測定方法と同様の試料に対し、NBP (Nitro-benzylpyridine) 法¹²⁾によって分画した。IFX はチトクローム P-450 オキシダーゼにより4-hydroxyifosfamide (M_1), さらに aldoifosfamide を介して水解酵素の働きで isofosfamide mustard (M_2) に分解される。こ

の M_1 , M_2 は水溶性代謝物であり、活性型として生体内で抗腫瘍作用を示すとされている。一方、 M_1 の dehydrogenation は 4-ketoifosfamide (M_5) や、Carboxyifosfamide に、また chloroacetaldehyde により 2-, 3-Dechloroethylifosfamide (M_3 , M_4) へ変換されるが、塩化メチレンによって非活性型 (M_3 , M_4 , M_5) として抽出される。血漿および組織内濃度の測定はファース原子吸光分析法で行った。 M_1 — M_5 のすべてを合わせたものを全 IFX (TV) とし、活性型 IFX (M_1 , M_2) を active metabolites (AML) として表現したが、**Fig. 1** は推測されている IFX の代謝経路を示している。

iii) AT-II の注入法は AT-II を生理食塩水に溶解し、CDGP-II、および IFM の腹腔内 1 回投与直後に microfuser にて尾静脈より持続的に静注 ($50\mu\text{g}/\text{kg}/\text{hr}$) した。血圧測定はヌードマウス尾部に装着した検圧計 (UR-500, ウェダ製作所, 東京) を用いて間歇的に測定した。

3) 組織学的検査

病理組織学的検査は、CDGP-II、IFX の継続投与実験群においてそれぞれの薬剤投与後 6 週まで

Fig. 1 Growth curves of NM-B-1 in three control groups. Patterns of the proliferation were similar in all groups.

Fig. 2 The metabolic pathway of ifosfamide.

の各群について検討した。摘出した腫瘍組織塊の一部を10%ホルマリンにて固定、パラフィン包埋、薄切したのちヘマトキシリン・エオジン染色を行い、光学顕微鏡にて検討した。

4) 治療効果の判定

i) 各実験群における腫瘍増殖曲線にて得られた第3, 第4, 第5, 第6週例の測定値について、対照群との間に統計学的有意差がみられるものを腫瘍増殖抑制効果ありと判定した。有意差判定には student-t test を用いた。

ii) 組織学的効果判定; 組織学的効果の判定は、泌尿器科・病理膀胱癌取扱い規約に準じて grade 0~3 に分類し、viable な腫瘍細胞がまったく認められないか、残存していても生存し得ないと判断される grade 3 を有効とした。

結 果

1. CDGP-II の腫瘍増殖抑制効果

CDGP-II の 1 回投与量, $2.5\text{mg}/\text{kg}$, $5\text{mg}/\text{kg}$, $10\text{mg}/\text{kg}$ (総投与量 $7.5\text{mg}/\text{kg}$, $15\text{mg}/\text{kg}$, $30\text{mg}/\text{kg}$) の 3 群について検討した。各投与群における 3, 4, 5, 6 週例においては、いずれも腫瘍増殖抑制効果を認めた ($p < 0.05$)。1 回投与量 $10\text{mg}/\text{kg}$ 投与群では 4, 5, 6 週の時点で $2.5\text{mg}/\text{kg}$,

Fig. 3 Growth curves of NM-B-1 after intraperitoneal administration of CDGP-II. The inhibitory effect was statistically dose dependent.

5.0mg/kg 投与群よりも強い腫瘍増殖抑制効果を示し、6週の時点においても移植時の体積まで回復せず、容量依存を示す著明な腫瘍増殖抑制効果が示された (Fig. 3)。

2. IFX の腫瘍増殖抑制効果

IFX の1回投与量を50mg/kg, 100mg/kg とし、5日間投与した結果、実験動物の死亡例は認めなかった。IFX 投与量の異なる両群においては腫瘍増殖抑制効果を認めなかった ($p > 0.05$, Fig. 4)。

3. 病理組織学的効果

対照群の膀胱癌株 (NM-B-1) の腫瘍細胞は、楕円形で核内クロマチンが豊富であり巨細胞が混在している。Dyskeratosis を伴う扁平上皮癌の方向に分化した未分化な移行上皮癌である (Fig. 5)。CDGP-II の6週投与後における組織像では、2.5 mg/kg 投与群 (総投与量7.5mg/kg) にて癌細胞

Fig. 4 Growth curves of NM-B-1 after intraperitoneal administration of ifosfamide. No statistical changes in three groups were observed.

Fig. 5 Light microscopic figure of the NM-B-I strain in control group. Poorly differentiated transitional cell carcinoma, characterized with pleomorphism and disarrangement, and partial dyskeratosis was observed. ($\times 60$)

の1/3が variable な細胞 (grade 1b) であり無効と判定した。5.0mg/kg 投与群 (総投与量15mg/kg) では、腫瘍細胞のエオジン染色性の低下傾向がみられ、部分的に細胞核萎縮や細胞質の淡明化傾向をみた。しかし、その変化は軽微であり組織学的効果判定基準から grade 2 とした (Fig. 6)。10.0

Fig. 6 Light microscopic feature treated with CDGP-II (15.0 mg/kg) in NM-B-I strain. Apparent vacuolar degeneration in cytoplasm and irregularity in cell size could be seen. ($\times 60$)

Fig. 7 Morphologic changes in NM-B-1 treated with CDGP-II (30.0 mg/kg). Peculiar changes with cytoplasmic vacuolation, cytomembranous rupture, and condensation or destruction of nuclei could be demonstrated. ($\times 80$)

mg/kg 投与群 (総投与量30mg/kg) では、腫瘍細胞の細胞質空胞化を中心に、部分的には腫瘍細胞の膜破壊が混在してみられた。とくに、巨細胞は核質萎縮が顕著であり、細胞間隙には線維細胞系の増生を認めた。組織学的効果判定基準から grade 3とした (Fig. 7)。IFX 投与群では投与量の異なるいずれの実験群においても組織像の変化を認めなかった (grade 0)。

4. CDGP-II, IFX の単独投与、ならびに AT-II 併用投与における組織内濃度

(1) CDGP-II 単独投与群

CDGP-II 投与法は30mg/kg を腹腔内に1回投与し、投与後30分、60分における血漿内濃度、腫瘍、肝、腎の各組織内濃度を測定した。腫瘍内濃度は30分値より60分値が高値であった。血漿内濃度は30分値に比べ、60分値で著しく減少し、肝内濃度は30分値と60分値で変化がみられず、腎内濃度では30分値よりも60分値が低値を示した (Table 1)。

(2) IFX 単独投与群

IFX 投与法は500mg/kg を1回腹腔内投与として、IFX の総代謝物質 (total value, TV) と、その中に占める活性型物質 (active metabolites, AML) を測定した。腫瘍内濃度では TV が30分値に比し60分において低値を示したが、AML は30分、60分値とも測定限界以下であった (Table 2)。血漿内濃度では、TV が30分値に比し60分値で低値であったが、AML に変化を認めなかった。また、肝・腎組織内濃度では TV 値、AML 値ともに30分値に比べ60分値が減少した。

(3) AT-II 併用昇圧下 CDGP-II 投与群

昇圧下での CDGP-II は、血漿内濃度および肝内濃度は30分値に比し60分値で上昇を示し、単独投与群との比較において有意な上昇を認めた ($p < 0.01$)。腫瘍内濃度は30分値に比し60分値で上昇を示したが、単独投与群との比較にて有意差を認めなかった ($p > 0.05$)。また、腎内濃度は60分値で著明に高値を示し、単独投与群との間に有意差を

Table 1 Distribution of platinum in blood plasma, tumor, liver and kidney after administration of CDGP-II (30 mg/kg) in hybrid nude mice

tissue	Pt concentration ($\mu\text{g}/\text{ml}$ or gr.) time after administration	
	30 min.	60 min.
blood plasma	11.7 ± 2.1	1.8 ± 0.5
tumor	7.2 ± 1.5	22.3 ± 2.2
liver	6.4 ± 1.0	7.8 ± 0.6
kidney	29.0 ± 2.9	18.6 ± 1.0

Table 2 Distribution of total value(TV) and active metabolites(AML) in blood plasma, tumor, liver and kidney after administration of IFX(500 mg/kg) in hybrid nude mice

tissue		concentration($\mu\text{g/ml}$ or gr.) time after administration	
		30 min.	60 min.
blood plasma	TV	81.5 $\pm$ 5.1	16.3 $\pm$ 1.4
	AML	13.2 $\pm$ 3.1	15.0 $\pm$ 1.2
tumor	TV	180.7 $\pm$ 17.6	85.8 $\pm$ 13.0
	AML	n.d.	n.d.
liver	TV	126.4 $\pm$ 6.5	70.4 $\pm$ 11.4
	AML	86.9 $\pm$ 1.4	66.4 $\pm$ 8.7
kidney	TV	130.9 $\pm$ 17.5	58.2 $\pm$ 7.8
	AML	107.2 $\pm$ 9.3	89.4 $\pm$ 7.7

Table 3 Distribution of platinum in blood plasma, tumor, liver and kidney after CDGP-II(30 mg/kg) and angiotensin-II loading in hybrid nude mice

tissue		Pt concentration($\mu\text{g/ml}$ or gr.) time after administration	
		30 min.	60 min.
blood plasma		10.5 $\pm$ 2.7	32.2 $\pm$ 3.9
tumor		11.8 $\pm$ 3.6	19.2 $\pm$ 1.6
liver		8.2 $\pm$ 1.8	16.9 $\pm$ 1.6
kidney		24.9 $\pm$ 4.3	191.1 $\pm$ 20.8

Table 4 Distribution of total value(TV) and active metabolites(AML) in blood plasma, tumor, liver and kidney after IFX(500 mg/kg) and angiotensin-II loading in hybrid nude mice

tissue		concentration($\mu\text{g/ml}$ or gr.) time after administration	
		30 min.	60 min.
blood plasma	TV	204.2 $\pm$ 9.2	175.5 $\pm$ 34.2
	AML	29.6 $\pm$ 7.0	51.9 $\pm$ 8.8
tumor	TV	227.2 $\pm$ 27.4	169.0 $\pm$ 9.6
	AML	n.d.	n.d.
liver	TV	187.6 $\pm$ 31.0	75.2 $\pm$ 11.4
	AML	150.1 $\pm$ 13.4	65.5 $\pm$ 5.0
kidney	TV	212.7 $\pm$ 22.7	173.7 $\pm$ 20.8
	AML	75.0 $\pm$ 11.0	161.8 $\pm$ 13.0

認めた ($p < 0.01$, Table 1, 3).

(4) AT-II 併用昇圧下 IFX 投与群

昇圧下での TV は、腫瘍内において30分値に比し90分値で低下し、IFX 単独投与群 (Table 3) との比較において有意差を認めなかった ($p > 0.05$). また、血漿内濃度、肝・腎組織内濃度のいずれにおいても30分値に比し60分値で低値を示した。これらの値は IFX 単独投与群 (Table 2) との比較において高値であり、血漿・腎組織内濃度は30分・60分値ともに統計的有意差を認めた ($p < 0.01$, Table 2, 4).

一方、昇圧時の AML 値は腫瘍組織内において単独群と同様に測定感度以下であった (Table 4). 血漿、腎組織内濃度は経時的に上昇を示し、30分値、60分値ともに IFM 単独投与群のそれと比較し有意な上昇を示した ($p < 0.01$). 肝臓では、AT-II 併用によっても IFX 単独投与群の60分値と比較して変化を認めなかった ($p > 0.05$).

考 察

1975年 Rygaard と Povlsen¹³⁾により初めてヒト腫瘍のヌードマウス移植系は、原腫瘍の組織形態や機能を保っていることで注目された。従来、in vivo での制癌剤感受性試験では、その臨床的予見性について検討され、in vitro の制癌剤感受性との相関性についても検討されてきている。われわれも、in vivo における制癌剤感受性試験を行い^{1,2)}、in vitro との比較も試みてきた。すなわち、in vitro の実験成績は細胞レベル、in vivo の実験成績は組織・臓器レベルでの検討といえるが、それらの特徴を生かし、さらに両者を組み合わせた制癌剤感受性テストを行うことはより優れた臨床予見性が得られるものと考えている。また、制癌剤スクリーニングの評価法として、母薬剤とその誘導体を比較し、誘導体のもつ薬剤感受性の違いを比較した結果から臨床効果を的確に予見できることが立証されている¹⁴⁾。

1. CDGP-II および IFX の生体内動態と抗腫瘍効果

制癌剤の生体内動態についての知見は、薬理作

用の把握だけでなく副作用の防止にもつながり、適切な投与量・投与法を決定するための多くの示唆を与えるものである。薬剤の投与法によって組織内濃度分布に違いがみられると報告されているが、本研究では腹腔内1回投与における薬剤の移植腫瘍内濃度、血漿内濃度を測定することで制癌剤が血漿から腫瘍へ移行する動態を分析し、さらに腫瘍増殖曲線・組織学的効果とともに、主要な代謝臓器である肝、腎における薬物動態も合わせて検討した。

CDGP-II は第二世代のプラチナ誘導体で、CDDP に比べて相当の抗腫瘍活性を有し、骨髄機能障害をはじめ腎機能障害、肝機能障害も軽度とされて、尿路性器腫瘍に対する第II相試験¹⁷⁾が行われている。CDGP-II は、単独腹腔内投与による血漿内濃度および腎組織内濃度が30分に比べ60分値で低下し、腫瘍内濃度は60分値で上昇を認めた (Table 1)。投与された CDGP-II の抗腫瘍活性は蛋白非結合性プラチナイオンが腫瘍内へ取り込まれ発揮するものと考えられているが、60分値においてさらに腫瘍組織内濃度が上昇した。この結果は、腫瘍増殖抑制曲線および組織像の検討において NM-B-1 に対する CDGP-II の抗腫瘍効果を裏づけるものである (Fig. 3, 5~7)。

IFX は CPA と同様、in vitro ではほとんど細胞毒性を示さず、生体内で活性化されたのちに抗腫瘍効果を発揮する抗癌剤とされている。本実験においては、IFX の 50mg/kg (総投与量 250mg/kg) 投与群、100mg/kg (総投与量 500mg/kg) 投与群のいずれにおいても腫瘍増殖抑制効果を認めなかった ($p > 0.05$, Fig. 4)。また、組織像の検討においても無効と判断された。IFX 500mg/kg 単独投与による臓器内薬剤濃度の測定では、IFX の TV が腫瘍、血漿、肝臓、腎組織のいずれにおいても、60分値は30分値よりも低値を示した (Table 2)。しかし、AML の組織内濃度は、血漿内濃度、肝および腎臓の組織において30分値と60分の間に有意な変化を認めず、腫瘍組織内では30分値、60分値ともに測定感度以下であった (Table 2)。抗腫瘍効果を発揮するための AML を得られなかったことが腫瘍増殖抑制曲線、組織像の結果に相当

するものと考えられた。

IFX 抗腫瘍性を発揮できないのは、腫瘍に対する薬剤感受性が欠如していると結論することは早計であるものと推察した。IFX の肝臓における代謝はチトクローム p-450 の追跡から分析され、その肝内クリアランスは time-dependent であっても肝内血流量の変化に影響されることなく低値である¹⁸⁾とされている。本研究においては、活性型 IFX が肝、腎臓において十分に得られたにもかかわらず、腫瘍組織内濃度が測定感度以下であったことから、IFX では腹腔内投与、皮下投与など担癌腫瘍実験における薬剤投与法の違いにおける生体内代謝をより詳細に解析する必要があることを示唆するものである。

2. Angiotensin-II による制癌剤の効果増強

制癌剤の殺細胞効果が十分に発揮される条件として、制癌剤が標的細胞に感受性を示すとともに、標的細胞における制癌剤の有効濃度が一定時間保持されることが要求される。すなわち、その効果では $C \times T$ (C : 薬剤濃度, T : 薬剤接触時間) の関数として表すことができる³⁾とともに、正常組織における副作用の検討においても $C \times T$ を理解しなくてはならない。この意味から、in vivo における組織内濃度を経時的に測定することは制癌剤の組織内有効濃度を明らかにすることにつながる。

本実験では、担癌ヌードマウスに2種制癌剤をそれぞれに腹腔内1回投与し、30分、60分後における血漿、腫瘍組織への移行とその体内動態を追求した。

CDGP-II 単独投与後30分、60分における抗癌剤の組織内濃度測定では、血漿・腎組織内濃度のいずれにおいても60分値が明らかな低下を示した (Table 1) のに対し、AT-II 併用例の CDGP-II は30分に比し60分値で血漿および肝、腎組織内濃度の上昇を認めた (Table 3)。CDGP-II 単独投与群との比較では、腫瘍組織内濃度にのみ有意な上昇を認めなかった ($p > 0.05$, Table 1, 3)。したがって、CDGP-II の抗腫瘍効果は AT-II 併用による組織内濃度の増加を必要とせず、むしろ薬剤容量の

増加による他臓器の副作用発現が懸念された。とくに、CDGP-II は CDDP に比べて腎毒性が少ないとされるが、AT-II 併用による腎組織内濃度の高値は急性腎不全を招来する可能性を示唆するものである。一方、IFX 単独投与 (500mg/kg) による組織内薬剤濃度の測定において、IFX の TV は腫瘍組織・血漿・肝臓・腎組織の60分値がいずれも30分値より低値を示した (Table 2)。しかし、AML は血漿内濃度において有意な変化を認めなかったにもかかわらず、腫瘍組織内では30分値、60分値ともに測定感度以下であった (Table 2)。また、肝および腎組織においては血漿内濃度より高値であったが、60分値にて低下した。さらに、AT-II 併用例における TV は腫瘍組織内において単独使用群と同様に30分値より60分値で低値を示したが、単独使用群との間に30分値、60分値のいずれにおいても有意差を認めなかった ($p > 0.05$)。血漿、腎臓のいずれにおいても IFX 単独投与群と比較し有意に高値を示し ($p < 0.01$)、単独投与群と同様に30分値より60分値で低下した。AML の腫瘍組織内濃度は、AT-II 併用によっても単独投与と同様に30分値、60分値のいずれにおいても測定感度以下であったことは抗腫瘍効果を発揮できない根拠と考えている (Table 2, 4)。また、血漿・肝組織の30分値は単独投与群より有意に上昇した ($p < 0.01$) が、60分値では血漿内濃度が上昇したにもかかわらず肝組織内濃度に変化を認めなかった。

これまでの実験結果から抗腫瘍効果を認めた CDGP-II の効果発現は AT-II 併用による組織内濃度の上昇を必要としなかったこと、IFX の AML は AT-II 併用によっても腫瘍組織内濃度が測定感度以下であったことが指摘できた。したがって、昇圧併用癌化学療法はこれらの問題をふまえ、臨床応用においては慎重な配慮が必要であろう。昇圧化学療法の効果を高める工夫として、腫瘍組織内 AT-II receptor の存在有無とその活性を検討する必要性を示唆するものである。

結 論

1) ノードマウス皮下移植法を用いて、膀胱腫瘍

株 (NM-B-1) に対する新プラチナ誘導体 cisdiammine (glycolato) platinum II (CDGP-II), ifosfamide (IFX) の制癌剤感受性について、腫瘍増殖抑制曲線、組織像から検討した。

i) CDGP-II 2.5mg/kg, 5mg/kg, 10mg/kg の3投与群のいずれも腫瘍増殖抑制効果を認めた ($p < 0.05$)。

ii) IFX 50mg/kg, 100mg/kg の2投与群では、腫瘍増殖抑制効果を認めなかった ($p > 0.05$)。

iii) CDGP-II 5.0mg/kg 投与群では、部分的に核萎縮や細胞質の淡明化から grade 2 の組織効果と判定した。10.0mg/kg 投与群は、細胞質空胞化、細胞膜破壊、核質萎縮がみられ組織学的効果 grade 3 であった。IFX 投与では、投与量の異なる実験群において組織像の変化は認めなかった。

2) CDGP-II, IFX の腫瘍、血漿内、肝および腎組織内薬剤濃度

i) CDGP-II (30mg/kg) 単独1回投与後の腫瘍内濃度では、30分値より60分値が高値、血漿内濃度は30分に比較して60分値で著しく減少した。肝内濃度は変化がみられず、腎内濃度ではむしろ低値を示した。

ii) IFX (500mg/kg) 単独1回投与後の総代謝物質 (TV) と、その中に占める活性型物質 (AML) において、腫瘍内濃度は TV が60分値に低値を示したが、AML は30分、60分値ともに測定限界以下であった。血漿内濃度は TV が30分値に比し60分値で低値、AML は変化を認めなかった。肝・腎内濃度は TV, AML とともに減少を示した。

iii) アンギオテンシン II (AT-II) 併用時の CDGP-II 1回投与後の血漿、腫瘍内、および肝、腎内濃度は30分値に比し、60分値で上昇を示した。単独投与群と比較し、血漿・肝、腎内濃度は有意に上昇した ($p < 0.01$) が、腫瘍内濃度は有意差を認めなかった ($p > 0.05$)。

iv) AT-II 併用時の IFX 1回投与後の TV では、腫瘍内濃度は30分値に比し60分値で低値を示し、単独投与群との間に統計的有意差を示さなかった ($p > 0.05$)。また、血漿内濃度、肝、腎組織内濃度ともに30分値に比し60分値で低値であり、血漿、腎内濃度は単独投与群との比較におい

て、30分値、60分値ともに有意に高値であった ($p < 0.01$)。AML の腫瘍内濃度は30分、60分値ともに測定感度以下であった。血漿内、腎内濃度が経時的に上昇を示し、単独投与群との比較においても有意な上昇であった ($p < 0.01$)。肝内濃度では60分値で低下し、単独使用群との比較では変化を認めなかった ($p > 0.05$)。

3) CDGP-II は NM-B-1 に対する制癌効果を認めるが、併用昇圧化学療法において組織内濃度を上昇させるものではない。一方、IFX は昇圧によっても IFX の AML を腫瘍組織内で測定できず、その制癌効果は得られない根拠を示した。昇圧化学療法においては、腫瘍組織内 AT-II receptor の存在有無と、その活性を検討する必要性を示唆するものである。

文 献

- 堀内和孝：ヒト泌尿生殖器系悪性腫瘍株を用いた腎被膜下移植法 (Subrenal capsule assay) における宿主反応の基礎研究。日泌尿会誌, 78, 2147~2154, 1979.
- 堀内和孝：ヒト泌尿生殖器系悪性腫瘍株に対する腎被膜下移植法 (Subrenal capsule assay) を用いた制癌剤感受性試験。日泌尿会誌, 79, 1633~1638, 1970.
- 涌井 昭, 鈴木磨郎：Angiotensin II による昇圧癌化学療法。癌と化学療法, 7, 1577~1583, 1983.
- Suzuki, M., Hori, K., Abe, I., Saito, S., and Sato, H.: A new approach to cancer chemotherapy; Scientific enhancement of tumor blood flow with angiotensin II. J. Natl. Cancer Inst., 63, 663~669, 1981.
- 光畑直喜, 松村陽右：DDP, Angiotensin II 併用動注療法。癌と化学療法, 13, 1429~1438, 1986.
- Morita, T., Kikuchi, T., Hara, Y., Ishikawa, S., Kobayashi, Y., Ishiyama, S., Tozuka, K., Gota, K., Takahashi, K., Yoshikawa, H., Tanaka, O., and Tokue, A.: Interarterial infusion chemotherapy with [Sar¹, Ile⁸] Angiotensin II for bladder cancer. Am. J. Clin. Oncol., 15, 188~193, 1992.
- 鈴木磨郎, 堀 勝義, 阿部郁夫, 斉藤祥子, 佐藤春郎：腫瘍血管の機能的特殊性。癌と化学療法, 6, 287~291, 1979.
- 加藤俊郎：腫瘍血流増量の臨床例における実態；血管撮影, 核医学的手技による観察。癌と化学療法, 13, 1423~1428, 1983.
- 坪井成美：ヒト泌尿生殖器系悪性腫瘍の異種移植に関する研究。第V報 ノードマウス移植ヒト膀胱腫瘍株 (NM-B-1) に対する化学療法。日泌尿会誌, 73, 883~897, 1982.
- 菅野浩一, 溝尻顕彌, 岡部 博, 江角凱夫, 高市松夫, 岡田雄二：新白金錯体, Cis-diammine (glycolato) platinum (254-S) の体内動態に関する研究；第1報 ラットにおける白金の分布および排泄。医薬品研究, 22, 231~242, 1991.
- 菅野浩一, 溝尻顕彌, 岡部 博, 江角凱夫, 高市松夫, 渋谷幸一：新白金錯体, Cis-diammine (glycolato) platinum (254-S) の体内動態に関する研究；第2報 イヌにおける白金の血中濃度および排泄。医薬品研究, 22, 901~910, 1991.
- Juma, F., Rogers, H., and Trounce, J.R.: Pharmacokinetics of cyclophosphamide and alkalating activity in man after intravenous and oral administration. Br. J. Clin. Pharmac., 8, 209~217, 1979.
- Rygaard, J., and Povlsen, C.O.: Heterotransplantation of a human tumor to nude mice. Acta Pathol. Microbiol. Scand., 77, 758~760, 1969.
- 藤田昌英, 藤田史子, 阪本康夫, 木久本卓司, 下妻晃二郎, 田口鉄男：消化器癌を中心としたヌードマウス移植ヒト癌；パネルによる抗癌剤前臨床試験の臨床効果予見性。癌と化学療法, 9, 1429~1437, 1991.
- 秋元成太, 坪井成美, 川村直樹, 中島 均, 由井康雄, 吉田和弘, 西村泰司, 川井 博：ヌードマウス移植ヒト前立腺癌に対する3種制癌剤の抗腫瘍効果及びその生体内動態。泌尿紀要, 27, 1497~1504, 1981.
- 吉岡 修, 山口志保子, 松田 明, 梅沢浜夫：癌化学療法剤研究におけるヌードマウスの役割。癌の臨床, 22, 707~713, 1976.
- Akaza, H., Togashi, M., Nishio, Y., Miki, T., Kotake, T., Matsumura, Y., Yoshida, O., Aso, Y., and 254-S Urological Cancer Study Group: Phase II study of cis-Diammine (glycolato) platinum, 254S, in patients with advanced germ-cell testicular cancer, prostatic cancer, and transitional cell carcinoma of the urinary tract. Cancer Chemother. Pharmacol., 31, 187~192, 1992.
- Lewis, L.D., Fitzgerald, D.L., Harper, P.G., and Rogers, H.J.: Fractionated ifosfamide therapy produces a time-dependent increase in ifosfamide metabolism. Br. J. Clin. Pharmac., 30, 725~732, 1990.

(受付：1994年3月28日)