

悪性腫瘍化学療法の実験的研究 第8報

弘前肉腫の Nitromin 耐性株に就いて

大 星 章 一

北空知組合病院 (院長 丸山明男博士)

青 木 一 夫

青森県立中央病院 (院長 小川信一博士)

(昭和 31 年 2 月 9 日受付)

腫瘍細胞の薬剤耐性に就いては、既に LAW¹⁾ によつて白血病の葉酸拮抗剤耐性株が報告されて居り、我国に於いても広野^{2),3)} は吉田肉腫の Nitromin 耐性株を作り、相沢⁴⁾ は武田肉腫の Sarkomycin 耐性に就いて報告している。我々^{5),6)} は前報に於いて弘前肉腫が Nitromin に対して容易に耐性を獲得することを報告したが、その後高度の耐性を示す 1 系を分離することに成功し、8 ヶ月間に亘つて累代移植を継続し、耐性の持続性、原株との形態学的比較、他の抗腫瘍性物質に対する感受性等に就いて観察した。

実験成績

[I] 耐性株の起原

第7報に報告した様に、我々は6例の Nitromin 治療再発例に就いて耐性検査を行つたが、その中で最も高度の Nitromin 耐性を示した SK 85 の移植 33 日後の腹水腫瘍細胞を基にして、7 代腹腔内移植を継続し、その間各代移植直後から Nitromin (5~10 mg/kg) を連日腹腔内に注射した。最初の間は無処置例に比して腹水腫瘍細胞の軽度の巨細胞化、異常分裂像の出現、増殖速度の遲滞が認められたが、生存日数の延長は全く認められず腫瘍死を遂げた。8 代目に 2 例に移植し、1 例は無処置、1 例は移植直後から 10 mg/kg の Nitromin の連日投与を行つたが、両者間には腹水腫瘍細胞の増殖経過、形態、生存日数、剖検所見等全く差違を認め得なかつた。即ち、腫瘍細胞は 10 mg/kg に対して完全に耐性を有するに至つたと考えられる。此の無処置のものを耐性株第 1 代として、その後無処置のまま腹腔内累代移植を継続し、1954 年 12 月 31 日から翌 1955 年 8 月 30 日まで 51 代、8 ヶ月間に亘つて観察した。

[II] 耐性株の累代移植経過 (原株との比較)

耐性株累代移植に用いたラツテは総計 77 匹で、移植陰性、自然治癒は 1 例も認められず、生存日数は最短 6 日、最長 19 日で、50% 生存日数は 10 日であつた。腹腔内移植後 4 日後に腫瘍細胞は腹水中で純培養状態になり時に出血性腹水を伴うことがあるのは原株と全く同様であつた。腫瘍細胞の血中出現は検査した 42 例中 22 例 (51.4%) に認められ、剖検上腫瘍形成も原株と同様腹壁穿刺部、大網、後腹膜等に見られ、広汎な淋巴節転移も認められた。胸、腹腔内淋巴節転移は 64 例 (83%) に、体表淋巴節転移は 28 例 (37%) に認められた。原株の無処置累代 96 例中、腫瘍細胞の血中出現率 74%、体表淋巴節転移 48%、胸腹腔内淋巴節転移 90% 以上、50% 生存日数 10 日に比較して略々同様の成績と言えよう。

腫瘍細胞は細胞学的に、塗抹ギームザ染色、超生体染色、醋酸ゲンチアナ紫染色による染色体構成上も原株との間に差異が認められなかつた。

[III] 耐性の持続性

耐性株累代移植経過中種々の時期に Nitromin に対する耐性検査を行い、何時まで耐性が保持されるか検討した。第 1 表に示す様に、46 代、225 日後に於いても尙耐

第 1 表 耐性の持続性

動物番号	耐性株成立後耐性検査までの期間		Nitromin 投与開始時期	Nitromin 投与		生存日数	腹水腫瘍細胞	剖検上腫瘍形成	耐性の有無
	累代代数	経過日数		mg/kg	継続日数				
SK 307	5	30	移植 4 日後	10	7	11	普通経過	+	+
SK 313	6	36	移植直後	7	12	12	同上	+	+
SK 381	14	72	移植直後	5	12	12	同上	+	+
SK 382	14	72	移植 4 日後	5	9	14	同上	+	+
SK 404	24	115	移植直後	20	7	7	同上	-	+
SK 409	27	127	同上	10	15	16	同上	+	+
SK 419	30	141	同上	10	7	7	同上	+	+
SK 443	34	160	同上	5	13	13	同上	-	+
SK 447	35	165	同上	20	14	13	同上	+	+
SK 457	36	170	同上	10	7	7	同上	-	+
SK 536	46	225	同上	10	8	9	同上	+	+

性は減弱することなく保持されていた。

【IV】 耐性株に対する Nitromin 及び Sarkomycin の影響の細胞学的観察

以前に我々は弘前肉腫に対する Nitromin 及び Sarkomycin の影響を細胞学的に追求した。耐性株に就いても同様 1 回注射による腫瘍細胞、殊に染色体の変化を時間的に追求した。第 2 表、第 1 図、第 2 図にその成績を示した。Nitromin は原株と異り耐性株腫瘍細胞には全く影響を示さなかつたが、Sarkomycin による変化は原株と全く同一であつた。

【V】 耐性株に対する他の制癌剤の治療効果成績は第 3 表に示した

(1) Sarkomycin 3 例 原株におけると同様腹水腫瘍細胞の増殖は抑制されたが延命効果は認められず腫瘍死をとげた。

(2) Actinomycin J 3 例 原株におけると同様、腹水腫瘍細胞の増殖は抑制され、1 例は治癒したが 2 例は延命効果なく腫瘍死をとげた。

(3) TEM 2 例 腫瘍細胞は無処置と同様の経過を辿つて増殖し延命効果なく腫瘍死をとげた。

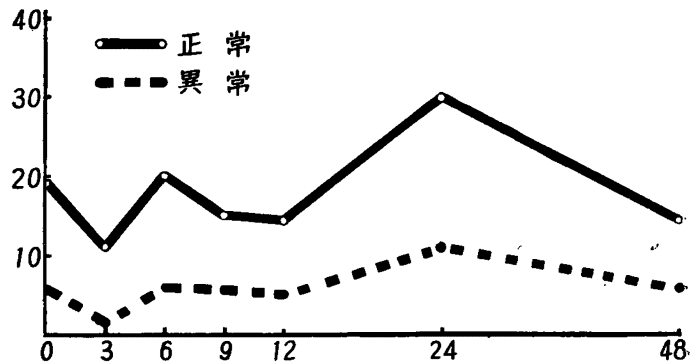
結局 Sarkomycin, Actinomycin J に対しては原株と同様の感受性を示し、TEM に対しては交叉耐性を示した。

総括及び考按

腫瘍細胞の薬剤耐性は一方に於いて治療上の重要問題であると同時に他方に於いては生物学上の興味ある問題でもある。即ち、一旦獲得された耐性は我々の実験に依つても明かな如く安定、不可逆的であり遺伝的のものである。此の耐性細胞が淘汰によつて残存したものか、変異によるものか、又適応によるものかは勿論現在の段階に於いて明らかではない。しかし耐性株と原株の腫瘍細胞の間には少くとも我々の検索した形態学的観察の範囲に於いては全

第 2 表 Nitromin 及び Sarkomycin の耐性株腫瘍細胞染色体に及ぼす影響

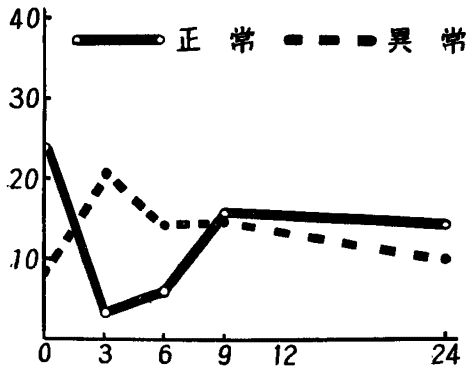
		SK 316 移植 4 日後注						SK 324 移植 4 日後 Sarkomycin 50mg 注					
		注射前	3 時間	6 時間	9 時間	12 時間	24 時間	48 時間	注射前	3 時間	6 時間	9 時間	24 時間
観察した分裂細胞数		50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50	50
正常分裂	前期	9	8	10	8	5	6	9	5	2	3	3	4
	中期	18	21	20	19	18	26	16	23	2	6	19	21
	後期	3	9	5	6	2	2	6	3	2	3	2	3
	終期	6	6	3	3	11	3	5	5	0	2	1	2
	計 (%)	72	86	76	72	72	74	72	72	12	28	50	60
異常分裂	膨化短縮	4	4	3	3	5	3	5	1	18	6	1	1
	球状化	0	0	1	0	3	0	0	1	5	4	0	1
	凝集	5	2	0	3	3	0	2	5	1	1	3	3
	部分的融着	0	0	0	0	0	0	0	0	4	8	8	2
	高度融着	0	0	0	0	0	0	1	0	8	7	0	0
	ラセン体内部構造変化	0	0	0	0	0	0	1	1	2	2	2	0
	遅滞	0	0	0	2	0	1	0	0	0	0	0	0
	橋形成	0	0	1	0	1	0	0	0	0	0	0	0
	散乱	3	1	4	6	2	8	5	6	6	8	11	13
	多極多核分裂	2	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0
計 (%)	28	14	24	28	28	26	28	28	88	72	50	40	
腫瘍細胞 2,000 個中の分裂細胞数		25	13	27	21	19	43	20	31	24	20	32	24
静止核細胞変性		-	-	-	-	-	-	-	-	+	+	+	±



第 1 図 腫瘍細胞 2,000 個中の正常及び異常分裂細胞の変動 SK 316 Nitromin 2mg 注射

く差異は認められなかつた。

他の薬剤に対する感受性の問題に就いては、SKIPPER 等⁸⁾は L1210 白血病の 6-Mercaptopurine 耐性株、8-Azaguanine 依存性株が Amethopterin に対して原株よりも感受性が強いことを報告している。又広野は吉田肉腫の Nitromin 耐性株が、Nitromin の同様の alkylating agent である N. M. Tris, N. M. Methylbis,



第2図 腫瘍細胞2,000個中の正常及び異常分裂細胞の変動 SK 324 Sarkomycin 50 mg 注射

第3表 耐性株に対する他の制癌剤の治療効果

制癌剤	動物番号	治療開始	治療		生存日数	腹水腫瘍細胞	剖検上腫瘍形成	
			per kg	継続日数				
ザシ ン コ マイ	SK 334	移植直後	350	mg	17	17	殆ど消失後増加	卅
	SK 352	同上	250	mg	15	15	消失後増加	卅
	SK 359	同上	300	mg	16	17	同上	卅
アイ ク シ ン J マ	SK 325	移植直後	10	mcg	20	治療	消失	
	SK 326	同上	15	mcg	9	9	同上	一
	SK 384	同上	7.5	mcg	15	17	同上	卅
T E M	SK 458	移植直後	0.5	mg	12	12	普通経過	卅
	SK 444	同上	0.5	mg	15	15	同上	卅

TEM に対しては交叉耐性を示すが 8-Azaguanine, Colchicin に対しては原株と同一の態度を示すことを報告している。我々の実験に於いても同様の成績を示している。此のことは耐性株を用いて各種薬剤の作用機転の差を解明する手掛りになるものである。

結 論

(1) 弘前肉腫の Nitromin 耐性株を作り長期間に亘つて耐性の持続性, 原株との比較, 他の薬剤に対する感受性に就いて検索した。

(2) 耐性は長期に亘つて安定, 不可逆的であり, 原株との間に細胞学的, 移植経過等の点に於いて差を認めず, Sarkomycin, Actinomycin J に対しては原株と同

様の態度を示したが, TEM に対しては交叉耐性を示した。

引用文献

- 1) LAW, L. W.: Proc. Soc. Exp. Biol. & Med. 77; 340, 1951.
- 2) 広野, 他 癌, 45 (2, 3); 496, 1954.
- 3) 広野: 癌, 46 (2, 3); 433, 1955.
- 4) 相沢, 他: 日病会誌, 44 (1); 151, 1955.
- 5) 大星, 他: 癌, 46 (2, 3); 462, 1955.
- 6) 大星, 他: Chemotherapy 4(2): 113, 1956.
- 7) 大星, 他: Chemotherapy 4(4): , 1956.
- 8) SKIPPER, H. E., et al. Cancer Research, Supplement No. 3; 44, 1955.