

抗癌剤に関する研究第2報

人胎児皮筋組織に及ぼす影響

広吉清一・高木良三郎

九州大学第1内科

(昭和31年10月4日受付)

I. 緒言

私共は第1報において, Nitromin, Azan, Sarkomycin の3抗癌剤が正常鶏胎児組織に及ぼす作用を報じた。今回は人胎児皮筋の培養組織に及ぼす影響を検じたので, その成績について報告する。

なお培養組織の代謝によつて培養液がアルカリ性から漸次酸性に傾くがそのpHの変化によつて抗癌剤の定量を行つて見たので併せて報告する。

II. 人胎児皮筋の培養組織に及ぼす影響

1. 実験方法

(A) 実験材料

1) 緩衝液 HANKS 氏液にペニシリン, ストレプトマイシンを 50 mcg/cc の割に加える。

2) 血清及び血漿 血清は新鮮牛血清を, 血漿はヘパリン加鶏血漿を使用した。

3) 鶏胎児浸出液。

4) 組織片 1~5カ月の人胎児皮筋を HANKS 氏液で3~4回洗い, 剪刀で出来る丈細かく切つて使用した。

5) 抗癌剤の濃度

Nitromin, Azan, Sarkomycin のいずれも 0.01 mcg/cc から 1,000 mcg/cc まで, 牛血清加 HANKS 氏液で10倍希釈法を行い, 各濃度について実験した。

(B) 組織培養法

第1報において報じた通り, ローラーチューブを使用した試験管法を採用した。

(C) 成績判定法

組織片が附着している部分を試験管壁のガラス越しに直接顕微鏡の弱拡大を以つて観察した。

その判定規準としては, 線維芽細胞が全く發育していないものを一, 増殖しかかっているものを十, 組織片の全周にわたつて増殖しているものを十とし, 更にその周囲における線維芽細胞の拡がりの広さと, その旺盛さを考慮して 十, 十, 十, 十 とした。

本実験は培養と同時に抗癌剤を添加して, その効果を見ると共に, 培養5日後, 即ち組織から線維芽細胞が或程度發育した後薬剤を投与して, その培養組織に対する効果を見た。

2. 実験成績

(A) Nitromin

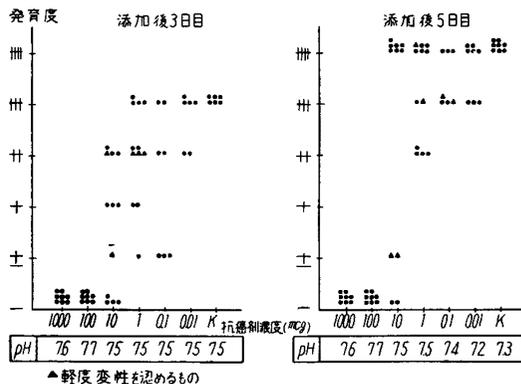
1) 培養と同時に添加した場合(第1図)

培養3日目では 100 mcg 迄は完全な發育阻止作用が見られ, 10 mcg から 0.1 mcg までは或程度の影響がある様であるが, 次第にその影響を減じている。5日目においても3日目とほぼ同様で, 10 mcg では一部に完全な發育阻止作用が明かに認められ, 1 mcg, 0.1 mcg の濃度でも透滅的な發育阻止並びに障害作用が認められる様である。培地の pH の変化も發育阻害作用に平行して酸性化の度合いが低い。

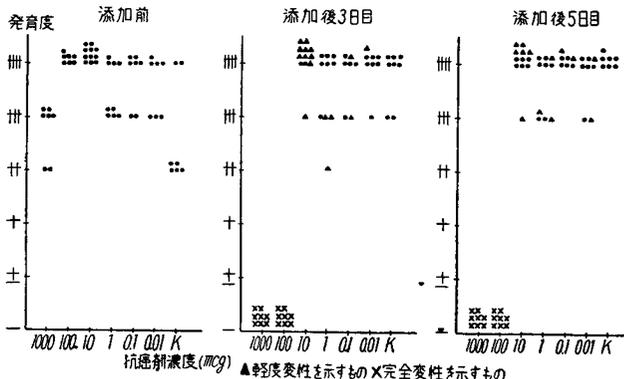
2) 培養5日目に添加した場合(第2図)

抗癌剤添加後3日目において, 100 mcg 迄は線維芽細胞

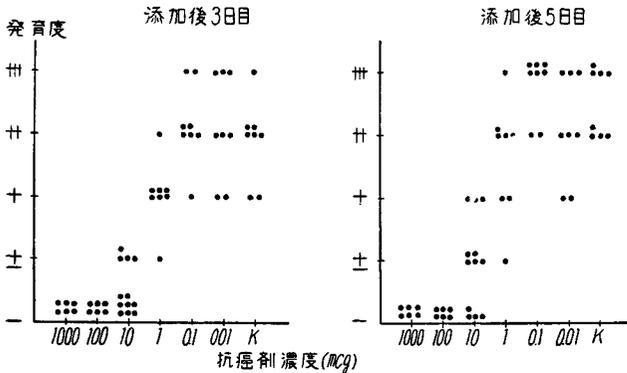
第1図 培養と同時にNitrominを添加した場合



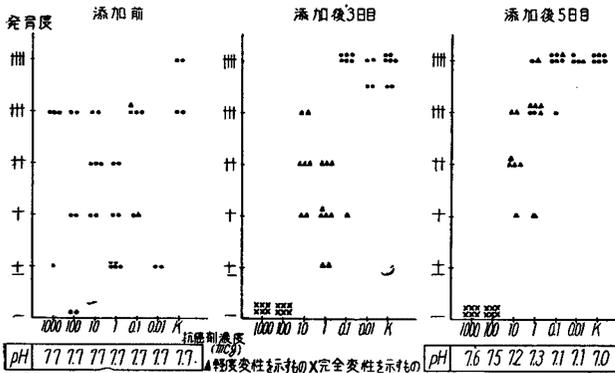
第2図 培養5日後にNitrominを添加した場合



第3図 培養と同時にAzanを添加した場合



第4図 培養5日後にAzanを添加した場合



においては発育せずそのまま変性に随っているが、1mcg においては、3日目に障害を受けたものの一部に再び発育している像が認められる。培地の pH の変化も障害の度合が大なる程酸性化の度合が低い。

(C) Sarkomycin

1) 培養と同時に添加した場合 (第5図)

培養3日目においては、100mcg 迄は完全な発育阻止を認め、10mcg においては或程度の発育阻止作用が認められるが、1mcg 以下の濃度では全く発育阻止作用を認め得ない。培養5日目においても同様なのが認められる。

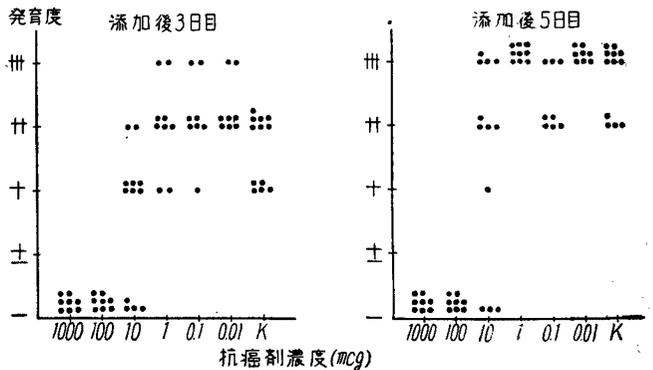
2) 培養5日目に添加した場合 (第6図)

薬剤添加後3日目には、100mcg 迄は完全な組織障害作用が見られ、10mcg においては一部障害作用を認める。5日目の成績も同様である。培地の pH の変化も障害の度合に従って酸性化の度合が低い。

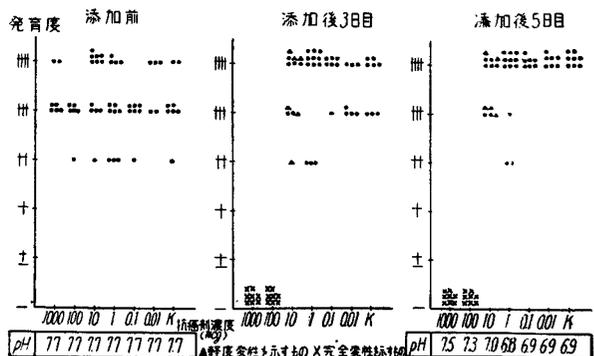
III. 比色法を応用した抗癌剤の定量法

以上の成績によつて、各培地の pH の酸性化の度合は組織の発育及び代謝の度合に平行すること

第5図 培養と同時にSarkomycinを添加した場合



第6図 培養5日後にSarkomycinを添加した場合



胞の完全な変性が認められ、10mcg においても大部分軽度の変性が認められる。1mcg 以下の濃度においても少数ながら軽度の変性が認められるものがある。5日目には 10mcg において3日目に軽度の変性を認めたもので恢復しているものもあるが、半数はそのままである。即ち培養直後添加の場合と同様 100mcg 迄は線維芽細胞に対し完全な障害作用があり、10mcg, 1mcg では或程度の障害作用が認められる。

(B) Azan

1) 培養と同時に添加した場合 (第3図)

培養3日目の成績は、100mcg 迄は完全な発育阻止を認め 10mcg, 1mcg と発育阻止作用は漸次弱まり、0.1mcg 以下の濃度においては全く認められない。このことは5日目の成績において一層明に示されている。

2) 培養5日目に添加した場合 (第4図)

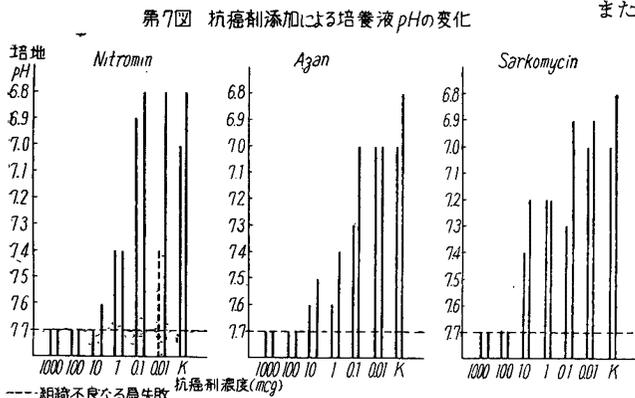
本剤投与3日目の成績では、100mcg 迄は完全な障害作用を認め、以下 1mcg 迄は或程度の障害作用を認めるが、0.1mcg 以下の濃度では全くこれを認めない。5日目の成績を見ると 10mcg

を知つたので、一定量の同種の組織片に各濃度の抗癌剤を添加し、密栓して培養を行い、その pH の変化を追求してみた。

1. 実験方法

毛細管ピペットで人胎児組織片を 0.01 cc 吸上げ（これをヘパリン血漿と鶏胎児浸出液で附着させることなく）そのままピダール試験管の底におき、培地を 0.9 cc と各濃度の抗癌剤 0.1 cc を加えて培養し、抗癌剤各濃度について 2 本の試験管につき培養 5 日後における培地の pH の変化を観察し、それによつて抗癌剤の人胎児筋肉組織に及ぼした代謝抑制の度合を調べ、逆に抗癌剤の定量を試みた。

2. 実験成績 (第 7 図)



(A) Nitromin

10 mcg 迄は殆ど最初の pH と変化はない。従つてこれは組織の発育、代謝の抑制が行われていることを示すものと考えた。1 mcg においては pH が 7.4 とやや酸性に傾き、或程度代謝が営まれていることを示すが、0.1 mcg 以下では 7.0 以下の酸性に傾き、抗癌剤の影響が及んでいないことを示している。

(B) Azan

100 mcg 迄は pH の変化がなく、完全な代謝抑制が見られるが、10 mcg, 1 mcg においては pH はやや酸性に傾き或程度の代謝障害があるものと思われる。0.1 mcg 以下では全く抗癌剤の作用は考えられない。

(C) Sarkomycin

100 mcg 迄は完全な代謝抑制作用が見られるが、10 mcg, 1 mcg では順次抗癌剤の影響は軽度になつてい

る。0.1 mcg 以下では全く正常な代謝をなしているものと考える。

従つて以上の実験方法を以て諸種抗癌剤の濃度を測定する場合、Nitromin では始めの培養液の pH を 7.7 とすれば、全く変化を起さない場合は 100 mcg 以上、全く変化を起さないか或は少し変化を見る場合は 10 mcg, 大体 pH 7.4 位では 1 mcg 程度、対照と変りなく pH 7.0 以下の酸性に傾く場合は 0.1 mcg 以下の濃度と考えられる。

Azan についても同様で全く変化を起さないものは 100 mcg 以上、pH 7.4~7.6 程度では 1~10 mcg 程度、対照と変りなく大体 pH 7.0 以下にある時は 0.1 mcg 以下と考えられる。

また Sarkomycin の場合も、全く pH の変化が見られない時は 100 mcg 以上、pH 7.4~7.6 程度の時は 1~10 mcg, 対照と差がない場合、即ち pH 7.0 以下の時は 0.1 mcg 以下と考え得る。

以上の規準によつて決めれば、大体の定量をなすことが出来るのではないかと考える。

IV. 結 語

以上 Nitromin, Azan, Sarkomycin 等の 3 抗癌剤の人胎児皮筋の培養組織に及ぼす影響を観察した。これを前回の正常鶏胎児組織に及ぼす影響と比較してみると、人胎児皮筋培養組織においては、Nitromin を除き、より低濃度においても抗癌剤の障害作用を蒙っている様に思

われる。これは人胎児組織の方が鶏胎児組織に比較して抗癌剤に対して、より感受性が高いことを示唆しているのではないかと考える。また以上 3 抗癌剤を培養 5 日後に添加した場合、3 日目に軽度の変性をおこした組織が 5 日目には或程度の回復を来しているが、これは 3 抗癌剤の効果が比較的早期に消失することを示唆していると考える。

なお比色法は術式も判定法も比較的簡単であり、抗癌剤の有効量を決定する場合用い得る方法であると思う。

HeLa 細胞などの単一細胞を使用する等、培養する組織の種類及び量を更に検討すれば一段と正確な結果が得られるものと思う。

終りに臨み、御指導と御校閲を賜つた操教授に深く感謝する。