

抗癌剤に関する研究 (第3報)

癌細胞に対する作用

広吉清一・高木良三郎・杉 養吉

九大医学部第1内科

(昭和32年5月6日受付)

I. 緒 言

私共は正常鶏胎児並びに人胎児の皮筋の組織培養を行ない、これにナイトロミン、アザン、ザルコマイシンの3抗癌剤を作用させた際の影響を観察して第1報、第2報として報告したが、今回はマウスの鼠蹊部に生じた腺癌組織及び HeLa 細胞に対する、これら3抗癌剤の影響を検したので、その成績について報告する。

II. マウス腺癌細胞に及ぼす影響

1. 実験方法

A 実験材料

a 培養液

塩溶液はハンクス氏液の組成に従い、これにイーグル培地の組成に準じてアミノ酸とビタミン類を加えた。

b 血清及び血漿

血清は牛血清を、培地の30~40%の割に加え、血漿はヘパリン加鶏血漿を使用した。

c 鶏胎児浸出液

d 癌組織

無菌的に癌組織を摘出し、ペニシリン、ストレプトマイシン加ハンクス氏液で2~3回洗い、鉗で細切した。

e 抗癌剤の濃度

抗癌剤はいずれも1,000 mcg から0.01 mcg まで10倍法で希釈した。

B 組織培養法

直接試験管壁を通して顕微鏡の弱拡大(50倍)で観察した。培養と同時に抗癌剤を添加したもものでは、添加後3日目、5日目、8日目の癌細胞の発育状況を観察し、培養後5日目、即ち癌細胞がかなり発育してから抗癌剤を添加したもものでは、添加後5日目、10日目の成績を観察した。

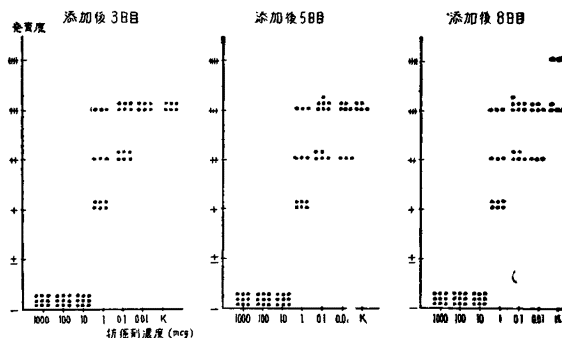
判定規準としては、母組織の周囲に全く癌細胞の増殖がないものを一、周囲に部分的に増殖しているものを土、全周にわたって2~3層増殖しているものを十。母組織の周辺から増殖している癌細胞の最外層まで、視野1面に見える場合を冊とし、十と冊との間を、その程度によつて冊、冊と判定した。

2. 実験成績

A ナイトロミン

a 培養と同時に添加した場合(第1図)

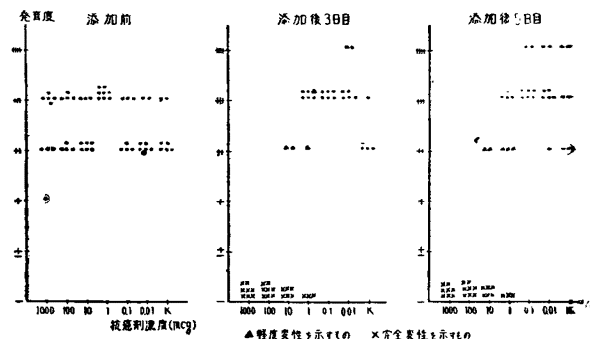
第1図 マウス癌細胞の培養と同時にNitroaminを添加した場合



3日目の成績をみると、10 mcg までは完全な発育阻止がみられ、それ以下0.1 mcg までの濃度では漸減的に抑制作用が現れている様に思われる。5日目及び8日目では0.01 mcg まで軽度な影響があるのではないかと思われる。

b 培養後5日目に添加した場合(第2図)

第2図 マウス癌細胞培養5日後にNitroaminを添加した場合

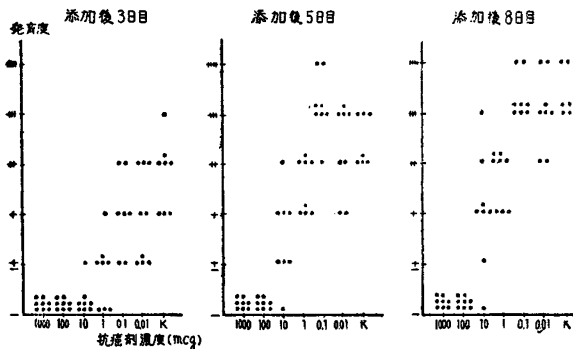


或程度発育したものにナイトロミンを添加した場合、3日目には10 mcg までは癌細胞に殆ど完全な変性をおこさせ、1 mcg においては軽度の変性を認めるが、それ以下の濃度では全く変化がない。5日目に1 mcg を作用させたものの約半数に変性を認める。従つて1 mcg までは或程度の障害作用があり、それ以下は全く影響がないものと考えられる。

B アザン

a 培養と同時に添加した場合(第3図)

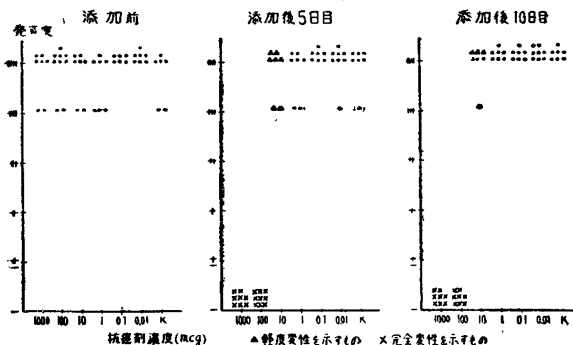
第3図 マウス癌細胞培養と同時に Azan と添加した場合



3日目では 10 mcg まで殆んど完全な発育阻止作用が見られ、1 mcg もかなりの阻止作用を認めるが、5日目になると 10 mcg においては抑制されながらも発育している状況が見られ、1 mcg では著明な影響をうけていない。8日目では 10 mcg と 1 mcg は漸減的に抑制作用を受けているが、0.1 mcg 以下は全く影響がない。

b 培養後5日目に添加した場合 (第4図)

第4図 マウス癌細胞培養5日後に Azan と添加した場合



5日目では 100 mcg までは完全な細胞の変性が見られ、10 mcg では軽度の変性が認められるが、10日目をみると 10 mcg における変性は回復して、発育しているのが認められる。

C ザルコマイシン

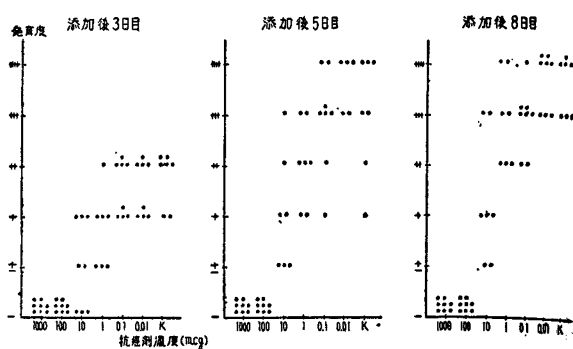
a 培養と同時に添加した場合 (第5図)

添加後3日目、5日目の成績をみると、100 mcg まででは完全な発育阻止作用を認め、10 mcg 及び 1 mcg では漸減的抑制作用を認める。8日後をみると、100 mcg においては明かに抑制作用が見られ、1 mcg 及び 0.1 mcg においては極めて軽度の抑制作用がある様に思われる。

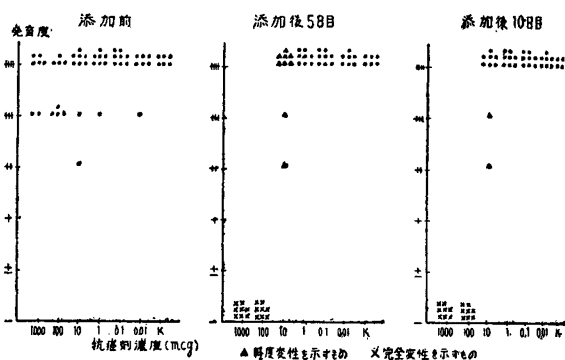
b 培養後5日目に添加した場合 (第6図)

添加後5日目をみると、100 mcg まででは完全な変性が認められるが、10 mcg においては変性は軽度であり、しかもこの 10 mcg における変性は 10 日後には殆んど

第5図 マウス癌細胞培養と同時に Sarkomycin と添加した場合



第6図 マウス癌細胞培養5日後に Sarkomycin と添加した場合



回復している。

D 小 括

ナイトロミン、アザン、ザルコマイシンのマウス腺癌細胞に対する発育阻止作用は細胞障害作用よりもややまさっている様である。

III. HeLa 細胞に及ぼす影響

1. 実験方法

A 実験材料

HeLa 細胞の培養液、その他の実験材料は、マウス腺癌細胞の場合と同様である。

B 培養法

試験管法による既定の HeLa 細胞の継代培養法に従った。

C 成績判定法

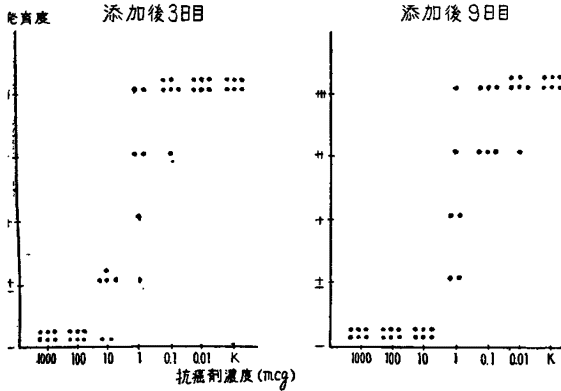
HeLa 細胞を継代培養して、一定の発育を示した培養5日目に抗癌剤を作用させ、添加後3日目、9日目の成績を直接試験管壁越しに顕微鏡の弱拡大 (50倍) で観察し、細胞の変性破壊のなかつたものを一、細胞の変性が軽度のものを土、完全に細胞が破壊されるか、或は試験管壁から脱落しているものを卍とし、その中間を変性の

程度に従つて、それぞれ十、廿と判定した。

2. 実験成績

A ナイトロミン (第7図)

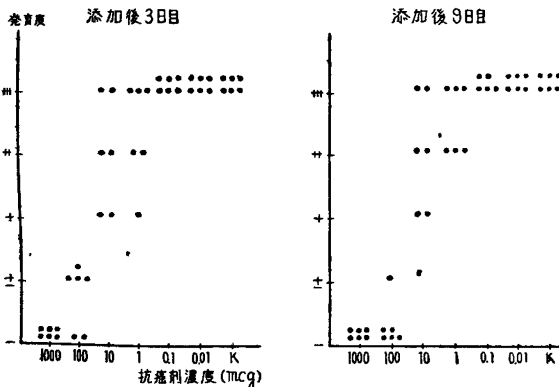
オ7図 HeLa 細胞培養後5日に Nitroimin を添加した場合



ナイトロミン添加後3日目の成績は 100 mcg までは細胞の完全な変性破壊を示し、10 mcg においてはそれよりやや軽度の変性がみられ、更に 1 mcg までは軽度の変性が認められる。9日目においてはその影響は更に著明となり、10 mcg までは完全変性を来してナイトロミンが著しい細胞障害作用があることを示し、0.1 mcg まではそれぞれの濃度に応ずる障害が見られた。

B アザン (第8図)

オ8図 HeLa 細胞培養後5日に Azan を添加した場合

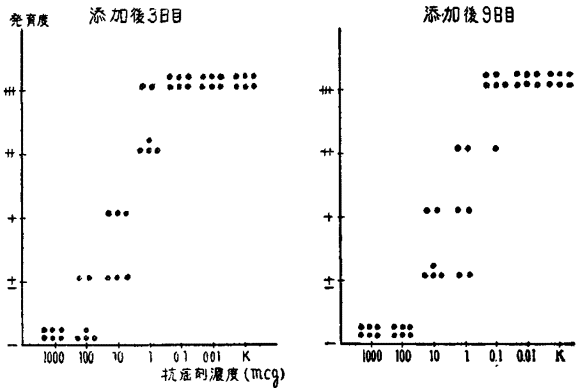


アザン添加後3日目には 1,000 mcg において完全な障害作用が認められ、更に 1 mcg までは漸減的に作用が認められる。9日目では 100 mcg も高度の障害作用を与え、更に 1 mcg まではその影響が認められる。

C ザルコマイシン (第9図)

ザルコマイシン添加後3日目では 1,000 mcg は完全な障害作用を示し、100 mcg から 1 mcg まで種々の程

オ9図 HeLa 細胞培養後5日に Sarkomycin を添加した場合



度の障害作用を示しているが、その程度はナイトロミンよりは弱く、アザンよりは強い。9日目には 100 mcg においても完全に細胞の変性破壊が見られ、更に 1 mcg までは明かな細胞の変性を認める。

D 小 括

HeLa 細胞は、ナイトロミン、ザルコマイシン、アザンの順位で強く影響を蒙っている。

IV. 結 論

私共はマウスの鼠蹊部に生じた腺癌の培養組織ならびに HeLa 細胞に対するナイトロミン、アザン、ザルコマイシンの影響を検して次の様な成績を得た。

(1) 腺癌細胞については大体ナイトロミン、ザルコマイシン、アザンの順位で影響を与えており、HeLa 細胞についても同じ順位において、腺癌細胞に対するよりもやや強い影響を与えている。

(2) 腺癌細胞に対しては、いずれの抗癌剤も、培養と同時に添加した場合の発育阻止作用の方が、培養5日後、細胞が一定程度発育してから添加した場合の組織障害作用よりも少量で現れた。

(3) 培養と同時に薬物を添加した場合は、薬物の効果が減退して後も、長くその影響が残る様であるが、細胞が一定程度発育してから添加した場合には、薬物の効力の消失と共にその影響が速やかに減退する様である。この事は抗癌剤の臨床的应用にあつても、可及的早期に未分化の若い細胞に作用させた方がその効果が大きであることを意味するものである。

(4) これらの3つの抗癌剤の、人胎児皮膚組織並びに癌細胞に対して障害作用を与える濃度を比較してみると、いずれの抗癌剤についても著明な差異は認められなかつた。従つてこれらの薬剤を以てすれば、癌細胞に発育阻止並びに障害作用を与える濃度では、正常組織細胞にもかなりの影響を与えるものようである。