

## 抗腫瘍剤の赤血球に及ぼす影響について 第1報

北川司良・岡本良平・川口 力・河村章治  
 桑原茂夫・四方統男・田中克明・安野喜夫  
 京都府立医科大学第2外科学教室 (指導 河村謙二教授)

(昭和33年12月15日受付)

## 緒 言

DYER<sup>1)</sup>, KARNOFSKY<sup>2,3)</sup> らによつて着目せられた癌の化学療法は、その後 Nitrogen mustard を始め、Nitromin, Azaguanin, Actinomycin, Sarkomycin, Carzinophilin, Tespamin 等の多数の抗腫瘍剤の発見により急速に発展し、最近各方面より外科的手術並びに放射線療法に加うるに、本療法の必要性が唱えられるに至つた。これらの抗腫瘍剤については、既に諸家により実験的に、あるいは臨床的に数多くの研究がなされ、それぞれ業績が発表せられているが、抗腫瘍剤の直接赤血球に及ぼす影響については神田ら<sup>4,5)</sup>の研究以外にその報告を見ない。

われわれは最近新しく合成された抗腫瘍剤、*o,o'*-*p*-phenylene NN'N''N'''-tetraethylene-tetramido-diphosphate, 通称 RC-4 (三共製薬) について、臨床的研究並びに動物実験によりその効果及び副作用に関して若干の知見を得たが<sup>6,7)</sup>、更にこの合成剤の赤血球に及ぼす影響を検べんとし、まずその溶血作用を試験管内で、他の抗腫瘍剤 Nitromin (武田薬工), Carzinophilin (協和薬研), 及び Tespamin 住友化学と比較した。以下その実験について詳述する。

## 第1章 実験方法

一定量の抗腫瘍剤を滅菌生理食塩水にて溶解せしめ、これらの溶液について浸透圧(氷点降下度)及び pH を測定し、その適否を確かめた後、これら溶液の希釈倍数一定の赤血球浮遊液を調製し、1°~5°C の氷室に保存して、別に調製した溶血比色標準液によつて 24~48 時間毎にその溶血状態を肉眼的に観察した。

## 1. 浸透圧(氷点降下度)及び pH の測定

乾燥 Ampule 中の Nitromin 及び RC-4 の結晶を滅菌生理食塩水にて溶解し、濃度が Nitromin では 5 mg/ml, 2.5 mg/ml 及び 1.25 mg/ml, RC-4 では 10 mg/ml, 5 mg/ml 及び 2.5 mg/ml の生理食塩水溶液 10 ml を、Carzinophilin においてはまず 1% 重曹液にて溶解せしめた後、滅菌生理食塩水にて希釈し、濃度が 500 u/ml, 250 u/ml 及び 125 u/ml, また Tespamin では直ちに滅菌生理食塩水にて希釈して濃度が 0.5 mg/ml, 0.25 mg/ml 及び 0.125 mg/ml の生理食塩水溶液をそれぞれ

10 ml 調製した。

上述の各抗腫瘍剤生理食塩水溶液及び溶解あるいは希釈に用いた生理食塩水溶液の浸透圧を氷点降下度測定法<sup>8)</sup>を利用して検べ、pH を堀場製作所製の pH-meter にて測定した。

## 2. 赤血球浮遊液の調製

血液型 O 型の正常成年男子の肘静脈より血液抗凝固剤を使用せずに滅菌乾燥した注射器にて血液 Ca 50 ml を採血し、直ちに滅菌生理食塩水 Ca 200 ml 中に入れ、良く攪拌した後、滅菌乾燥した 50 ml 目盛付遠沈管に赤血球を洗滌且つ遠沈しながら集め、更に滅菌生理食塩水にて 3 回遠沈 (2,500 r. p. m., 10 min.), 洗滌し、最後に滅菌生理食塩水を加えて正確に希釈倍数 5 倍の赤血球浮遊液を作り、この赤血球浮遊液を 2 ml, 1 ml 及び 0.5 ml づつ採り、予め滅菌乾燥した厚さ一定の同一内径を有する試験管内に調製せられた前述の抗腫瘍剤生理食塩水溶液に加え、各抗腫瘍剤のそれぞれの濃度における 25 倍, 50 倍及び 100 倍の 3 種の赤血球浮遊液, 抗腫瘍剤生理食塩水溶液を 10 ml 調製した。

また対照として滅菌生理食塩水溶液の 25 倍, 50 倍及び 100 倍希釈の赤血球浮遊液を調製した。

## 3. 溶血比色標準液の調製

前述の希釈倍数 5 倍の赤血球浮遊液の 20 ml, 10 ml 及び 5 ml をそれぞれ 100 ml のメスコルベンに採り、滅菌蒸溜水にて溶血せしめ、25 倍, 50 倍及び 100 倍希釈の赤血球浮遊液の 100% 溶血液を作り、これを更に希釈して各希釈倍数における 5% 溶血液及び 10% 間隔の溶血液を 10% から 100% まで滅菌乾燥した試験管(前述 2. における試験管)に 10 ml づつ調製し、溶血状態観察の比色標準液とした。

## 第2章 実験成績並びに考案

## 1. 浸透圧(氷点降下度)及び pH

各抗腫瘍剤の浸透圧(氷点降下度)及び pH の値は、各濃度によつては殆んど差異は認められず、それらの 3 回測定した値の平均値を第 1 表に示す。

各抗腫瘍剤生理食塩水溶液と溶解あるいは希釈に使用した滅菌生理食塩水の氷点降下度の差異は 0.012~0.028 で、これを栗原<sup>9)</sup>の導いた実験式により食塩水濃度に換

第1表 氷点降下度 ( $\Delta$ ) 及び pH

測定溶液	$\Delta$	pH
生理食塩水溶液	0.592	6.6
Nitromin 生理食塩水溶液	0.620	2.8
Carzinophilin 生理食塩水溶液	0.597	8.7
Tespamin 生理食塩水溶液	0.595	6.5
RC-4 生理食塩水溶液	0.606	6.8

算すると 0.008~0.025 g/dl となり、各抗腫瘍剤の生理食塩水溶液は等張として差支えない。しかし pH の値は各抗腫瘍剤によつて異なり、Nitromin 生理食塩水溶液の pH は 2.8 で強酸性を、また Carzinophilin 生理食塩水溶液のそれは弱アルカリ性を呈するほかは生理食塩水と略同値を示し、舟木ら<sup>10)</sup>によつて報告せられている赤血球浮游液の至適 pH 範囲内にある。

## 2. 溶血状態

### (1) 生理食塩水 (対照)

各測定時間における溶血率は第2表に示すように、保存時間の経過につれて溶血率は大きくなり、また血球の希釈倍数の大きいほど溶血率も大きくなつていて、既に報告せられている武田<sup>11)</sup>、片山<sup>12)</sup>らの実験結果とよく一致している。

第2表 生理食塩水の溶血率 (%)

測定時間 (日)	希釈 倍数			測定時間 (日)	希釈 倍数		
	25	50	100		25	50	100
1	0	0	0	12	22	52	60
2	0	0	1	14	27	55	68
3	1	1	2	16	43	77	80
4	1	2	2	18	67	85	92
5	3	4	5	20	86	93	100
6	5	15	20	22	94	100	100
7	5	20	32	24	100	100	100
8	10	25	37	26	100	100	100
9	18	33	42	28	100	100	100
10	18	40	50	30	100	100	100

### (2) Nitromin 生理食塩水溶液

神田<sup>5)</sup>らが Nitromin と赤血球内の Heinz 小体との関係の試験管内実験において 500 mg/dl では早期に溶血が起り検査が出来ないことを指摘しているように、われわれの実験においても前述の実験方法において述べた赤血球浮游、Nitromin 生理食塩水溶液を調製するとき、各濃度において直ちに溶血を起し、25 倍希釈溶液では暗赤褐色の、50 倍希釈溶液では褐色の、また 100 倍希釈溶液では淡褐色のそれぞれ透明な溶液となり管底に著明な灰白色の絮状沈澱を認めた。

第3表 Carzinophilin 生理食塩水溶液の溶血率 (%)

測定時間 (日)	濃度								
	500 u/ml			250 u/ml			125 u/ml		
	25	50	100	25	50	100	25	50	100
1	0	0	2	0	0	1	0	0	1
2	2	3	5	2	3	2	2	2	2
3	17	20	30	5	10	20	3	5	20
4	30	45	63	15	40	56	10	22	60
5	85	90	100	26	93	100	20	40	95
6	95	95	100	38	100	100	25	65	100
7	100	100	100	80	100	100	40	100	100
8	100	100	100	90	100	100	45	100	100
9	100	100	100	95	100	100	50	100	100
10	100	100	100	98	100	100	66	100	100
12	100	100	100	100	100	100	90	100	100
14	100	100	100	100	100	100	100	100	100
16	100	100	100	100	100	100	100	100	100
18	100	100	100	100	100	100	100	100	100
20	100	100	100	100	100	100	100	100	100
22	100	100	100	100	100	100	100	100	100
24	100	100	100	100	100	100	100	100	100
26	100	100	100	100	100	100	100	100	100
28	100	100	100	100	100	100	100	100	100
30	100	100	100	100	100	100	100	100	100

これは Nitromin 生理食塩水溶液の氷点降下度が 0.620 で等張と考えられるので、滲透圧の差異によつて起つたものでなく、既に舟木ら<sup>10)</sup>が観察している如く、pH 2.8 という強酸性のために生じた現象と思われる。

### (3) Carzinophilin 生理食塩水溶液

各測定時間における溶血率は第3表に示す。濃度が大きいほど、また希釈倍数の大きいほど溶血は速かに起り、希釈倍数による差異は対照の生理食塩水の場合と同一の傾向を呈す。Carzinophilin が後述するように Tespamin, RC-4 と少々異つた溶血状態を呈するのは、1% 重曹液が生理食塩水溶液に含まれ、pH 8.7 と弱アルカリ性を呈するため、塩類溶血と同様の溶血状態を起すものと考えられる。

### (4) Tespamin 生理食塩水溶液

各測定時間における溶血率は第4表に示すように濃度が大きいほど、また希釈倍数が小さいほど保存時間の経過につれて溶血率は大きくなつていて、希釈倍数による溶血率の変化は生理食塩水単独の場合 (対照) 及び Carzinophilin 生理食塩水溶液の場合とは反対の現象を呈し、濃度 0.125 mg/ml の 50 倍及び 100 倍希釈溶液の溶血の進行は対照に比して遅れているという特異な結果を得た。

### (5) RC-4 生理食塩水溶液

第4表 Tespamin 生理食塩水溶液の溶血率 (%)

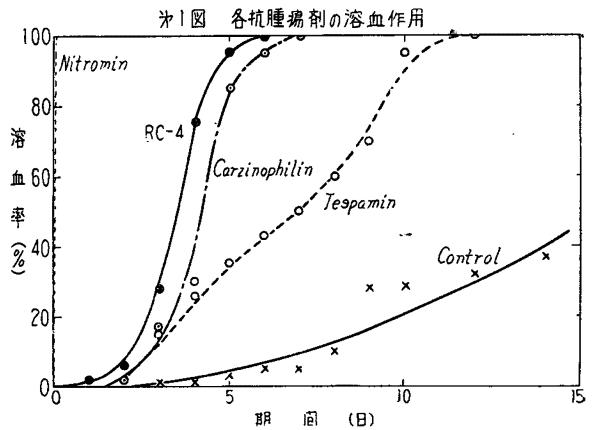
濃度 希釈 倍数	0.5 mg/ml			0.25 mg/ml			0.125 mg/ml		
	25	50	100	25	50	100	25	50	100
1	2	0	0	2	0	0	2	0	0
2	2	1	1	2	1	1	2	1	1
3	15	10	10	15	10	10	15	8	10
4	26	20	15	25	15	15	15	10	10
5	35	30	20	25	20	20	15	10	20
6	43	35	30	28	20	20	23	20	20
7	50	40	40	40	35	30	25	20	20
8	60	50	45	60	35	35	25	25	25
9	70	55	50	65	50	35	25	25	25
10	95	77	55	80	60	40	25	25	25
12	100	85	65	85	80	48	30	30	30
14	100	92	80	90	86	73	56	48	40
16	100	100	93	95	90	80	58	50	48
18	100	100	97	100	100	92	65	58	52
20	100	100	100	100	100	97	73	65	60
22	100	100	100	100	100	100	80	72	64
24	100	100	100	100	100	100	90	80	70
26	100	100	100	100	100	100	100	93	83
28	100	100	100	100	100	100	100	100	95
30	100	100	100	100	100	100	100	100	100

第5表 RC-4 生理食塩水溶液の溶血率 (%)

濃度 希釈 倍数	10 mg/ml			5 mg/ml			2.5 mg/ml		
	25	50	100	25	50	100	25	50	100
1	2	0	0	1	0	0	0	0	0
2	6	2	2	3	1	1	1	0	0
3	28	2	2	15	2	2	7	2	2
4	75	10	5	40	8	5	25	8	5
5	95	20	7	85	15	10	60	15	10
6	100	25	10	98	15	10	90	15	10
7	100	25	10	100	18	15	97	15	15
8	100	30	20	100	20	15	100	20	20
9	100	30	20	100	25	15	100	25	20
10	100	30	25	100	25	20	100	25	25
12	100	30	25	100	30	20	100	30	25
14	100	35	30	100	35	30	100	35	30
16	100	45	40	100	45	40	100	45	40
18	100	65	57	100	60	50	100	60	50
20	100	85	73	100	80	75	100	75	70
22	100	95	90	100	88	75	100	80	78
24	100	97	95	100	90	80	100	90	78
26	100	100	100	100	95	85	100	95	80
28	100	100	100	100	92	80	100	97	86
30	100	100	100	100	100	100	100	100	100

RC-4 生理食塩水溶液の溶血状態は第5表に示すように、Tespamin のそれと殆んど同様である。すなわち、希釈倍数 25 倍において濃度が大きいほど保存時間の経過につれて溶血率は大きくなり、希釈倍数が 50 倍、100 倍と大きくなると溶血率は小さくなり、また各濃度において生理食塩水の場合より溶血の進行が遅延している。

以上の成績を各抗腫瘍剤の通常使用せられる溶液の濃度において、25 倍希釈液についてその溶血作用を比較すると第1図のようになり、Nitromin は直ちに溶血せしめ、RC-4 は完全溶血を起すのに6日、Carzinophilin は7日、Tespamin では12日を要す。



抗腫瘍剤を生体に投与する場合は抗腫瘍剤の血中濃度の減少、排泄等により自らそれらの持つ溶血作用は減弱するが、抗腫瘍剤は一般に一定期間、連日投与する機会が多いため、これらの溶血作用は看過し得ないものがあると考えられる。既に神田<sup>4,5)</sup>らによつて研究せられた Heinz 小体との関係、あるいは深瀬<sup>13)</sup>らによつて追求せられている溶血性貧血は、著者らの実験によれば抗腫瘍剤自体が直接赤血球に作用し、溶血の因子を形成するために生起するものではないかと思われる。しかしこれらの抗腫瘍剤の溶血作用が吸着による赤血球膜の破壊によるものか、赤血球内への浸透作用によるものか、あるいは赤血球の生成構構に影響するものかは今後の研究に俟たねばならぬ。

この実験においては数十本の試験管を要し、各試験管の厚さ及び内径の僅かの相違、赤血球の洗滌操作、比色方法、時間のズレ、抗腫瘍剤の温度並びに時間的の安定性等による誤差を考慮しなければならぬ。

総括

抗腫瘍剤の赤血球に及ぼす影響として、まずその溶血作用を Nitromin, Carzinophilin, Tespamin, RC-4 について試験管内実験により比較検討し、次のことを明らかにした。

1. 各抗腫瘍剤の生理食塩水溶液の滲透圧は、その種類及び濃度に関係なく等張と見做し得る。

2. Nitromin の生理食塩水溶液は強酸性を、Carzinophilin は弱アルカリ性を、Tespamin 及び RC-4 は略中性を示す。

3. 通常使用せられる各抗腫瘍剤生理食塩水溶液の一定濃度における溶血作用は Nitromin が最も強く、RC-4, Carzinophilin, Tespamin の順に弱くなっている。

稿を終るに臨み、御指導と御校閲を賜わつた恩師 河村教授に厚く謝意を表す。

#### 文 献

- 1) H. M. DYER: An Index to Tumor Chemotherapy (1949).
- 2) D. A. KARNOFSKY: Am. J. Med. 8, 689 (1950).
- 3) D. A. KARNOFSKY: The Physiopathology of Cancer, Hoeber-Harper N. Y. p. 621~663, (1953).
- 4) 神田瑞穂, 重信幸男, 三木久也: 岡山医学会雑誌, 68, 2075 (昭和 31 年).
- 5) 神田瑞穂, 重信幸男, 三木久也: 日本法医学雑誌, 10, 190 (昭和 31 年).
- 6) 北川司良, 岡本良平, 山下圭司, 三浦玄洋, 川口力 日本外科学会雑誌, 59, 735 (昭和 33 年).
- 7) 北川司良, 岡本良平, 山下圭司, 三浦玄洋, 川口力 第 38 回近畿外科学会に発表.
- 8) 藤井暢三: 生化学実験法 (定量篇) p. 486.
- 9) 栗原良輔: 京府医大誌, 55, 165 (1954).
- 10) 舟木広, 真銅恒一, 大池覚, 寺内嘉孝, 本郷節哉, 中村精次: 京府医大誌, 60, 933 (1956).
- 11) 武田創, 蘇天与, 杉浦守邦: 京府医大誌, 54, 859 (1954).
- 12) 片山吉穂, 中島二郎, 小門峯子, 舟木広: 京府医大誌, 54, 861 (1954).
- 13) 深瀬政市, 中野裕, 紺田進, 但馬浩, 竹内三郎, 原本康民, 菅野明, 金川一彦, 渡辺清美: 第 2 回近畿輸血学会 (昭和 33 年).