

コバルトプロトポルフィリン錯塩の実験腫瘍に対する治療効果
腹水型腫瘍に関する考察

浦部幹雄・高橋正宜

中央鉄道病院臨床検査科病理

(昭和 38 年 8 月 12 日受付)

ヘマトポルフィリン水銀 (MH) の実験腫瘍に対する制癌作用は EHRLICH 固型癌に対してみとめられるにもかかわらず、腹水癌に対しては全く効果を期待できないといわれるが、その理由は究明されていない^{1,2)}。ヘマトポルフィリンは生体に存在しない人工産物であるが、通常生体に存在するプロトポルフィリンのコバルト錯塩 (以下 COPP) は亜鉛プロトポルフィリンと同様に細胞内酸化触媒作用の最も強いものに属する³⁾。これを、細胞の生活エネルギー源を主として嫌気性解糖作用に置く癌の治療に応用することは興味深いものがある。つまり従

来の細胞毒アルキル化剤と作用機序を異にし、腹腔内投与法における腹水癌に対する直接効果は期待しにくいが、Sarcoma 180 腹水型、EHRLICH 腹水癌、AH 272 に対する延命効果を多少ともみることができた。その大要は既に記載したが、補追検査事項を追加し 2, 3 の考察を試みる。

1. EHRLICH 腹水癌に関する考察

平均体重 18 g の dd 系マウス (雌) に、EHRLICH 腹水癌 (予研獣疫部から分与された株を使用) 移植 7 日目、純培養状態の腹水 3 倍稀釈のものを 0.25 cc 腹腔内に移植し、移植後 24 時間目から治療を開始した。

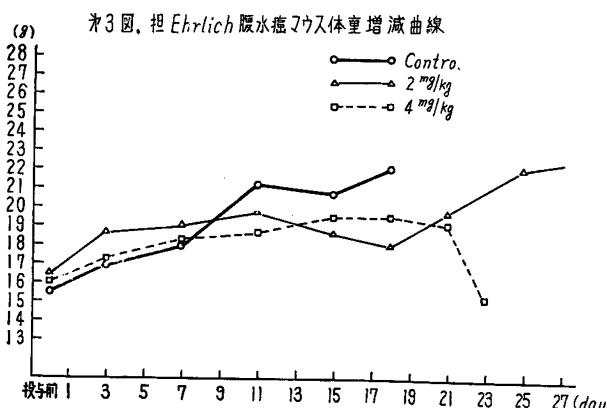
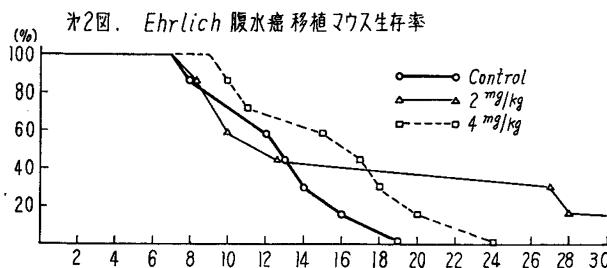
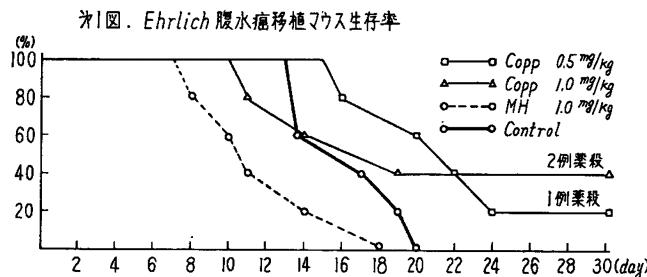
a) MH 実験成績における結節癌に対する有効量を参照とし、予試験的に COPP 0.5 mg/kg, 1.0 mg/kg および MH 1.0 mg/kg を 1 日 1 回、連続 7 回の腹腔内投与を行ない、30 日まで観察した。

使用マウスの少数なため判定できないが 1.0 mg/kg 投与群で 5 例中 2 例、0.5 mg/kg 投与群では 5 例中 1 例に 30 日生存薬殺例をみとめ、対照群の平均生存日数 16.8 日に対して 1 mg/kg 技与群では 21.8 日以上、0.5 mg/kg 投与群では 20.8 日以上を示した。一方 MH 投与群は平均生存日数 12.2 日と対照群よりもかえつて不良な結果を得た (第 1 図)。

各群 2 例を適当に選んで経時的に細胞数と分裂像を検討したのが表 1 である。

0.5 mg/kg 投与群で 30 日生存薬殺例が含まれているが細胞学的效果はみとめられない。1.0 mg/kg 投与の 1 例 (No. 9) は細胞数の減少消失および有糸分裂像の消失を示している。

b) 佐古⁴⁾は比較的少数細胞 (10^4 個/マウス) の腹腔内接種マウスに対する治療実験において、0.5 mg/kg, 1.0 mg/kg, 5.0 mg/kg, 10.0 mg/kg, 30.0 mg/kg の投与群のうち、有効薬用量が 1.0~5.0 mg/kg にあることをみとめている。そこで再現性



の確認と更に長期間投与による影響をみる目的で、2 mg/kg, 4 mg/kg を 1 日 1 回 15 日間の連続投与を試み、延命効果とあわせて体重の推移、細胞数の消長を観察した。実験結果として 15 回の連続投与にもかかわらず初回より以上の良い成績は得られず、少数に生命の延長をみとめた。即ち 2 mg/kg 投与群において 27 日以上の生存例を示したもの 7 例中 3 例で対照群の平均生存日数 14.1 日に対し 2 mg/kg 投与群では 19.4 日、

4 mg/kg 投与群では 16.4 日であった(第 2 図)。しかしながら体重増加の抑制効果(第 3 図)および細胞効果(表 2)に関して有意な結果は得られていない。

2. Sarcoma 180 腹水型に関する考察

体重 20 g 前後の dd 系マウスを使用し、移植 7 日目の腹水原液を 0.1 cc 腹腔内に接種、移植後 24 時間目から治療を開始し、1 日 1 回連続腹腔内投与法を実施した。投与量は 0.5 mg/kg, 1 mg/kg, 2 mg/kg, 4 mg/kg

表 1 EHRLICH 腹水癌の COPP 治療による有糸分裂の推移

群	動物番号	分裂期	治療前	治療後日数										
				1	3	5	8	11	14	17	20	25		
COPP 0.5 mg/kg	1	P M A T	11 4 3 0 18	15 7 3 0 26	5 4 3 0 12	12 5 3 0 20			15 4 2 1 22	7 2 2 1 12				
		細胞数	730	390	534	438			1,396	968				
COPP 1.0 mg/kg	5	P M A T	1 3 4 3 11	0 1 0 0 1	2 0 0 0 2	2 0 0 0 2	2 1 2 0 5	16 4 3 1 24	9 6 2 1 18	2 4 3 1 10	11 3 0 0 14	3 3 4 1 14	30日 目殺	
		細胞数	98	512	424	208	162	618	768	1,154	226	226	476	
COPP 1.0 mg/kg	8	P M A T	17 1 1 4 23	12 4 2 0 18	13 5 3 0 21	16 10 1 1 28	8 6 3 0 17	14 2 3 1 20	6 5 2 1 14	0 3 3 0 6				
		細胞数	258	254	884	934	872	1,206	1,280	868				
MH 1.0 mg/kg	9	P M A T	19 4 1 1 25	16 6 1 0 23	13 11 6 1 31	10 4 1 1 16	0 0 0 0 0	1 1 0 0 3	4 0 0 0 4	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	0 0 0 0 0	30日 目殺	
		細胞数	1,506	2,540	1,418	1,294	750	30	96	22	64			
MHI 1.0 mg/kg	16	P M A T	18 4 4 2 28	20 7 6 2 35	7 3 5 2 17	20 6 2 0 28	5 4 2 0 11	2 1 0 0 3	2 0 0 0 2					
		細胞数	1,082	522	748	305	730	876	764					
癌	17	P M A T	36 13 4 3 56	14 0 2 1 17	10 3 5 2 20	6 4 2 0 12								
		細胞数	476	598		1,548								
癌	12	P M A T	17 5 1 2 25	24 11 5 3 43	15 9 5 1 30	17 6 5 2 30	16 6 3 2 27	6 4 2 2 14	13 8 2 3 26					
		細胞数	1,204	1,310	1,354	1,398	944	686	684					
癌	13	P M A T	18 2 2 1 23	19 7 3 2 34	18 6 8 2 34		18 7 4 2 31	8 6 2 1 17	21 6 4 4 35	5 4 7 0 16				
		細胞数	1,266	1,014	1,270		412	1,412	1,590	812				

註：上記癌細胞数は $\times 100/\text{mm}^3$ とする。有糸分裂数は癌細胞 1,000 個中の総数で示す。

表 2 EHRLICH 腹水癌移植マウスの腹水中癌細胞数の消長

群	動物番号	投与量	投与前	3日目	6日目	9日目	13日目	17日目	22日目
I	30	2 mg/kg	782	502	854	898	894	634	1,014
	31		採取不能	758	756	1,004	1,772	688	764
	32		1,110	764	806				
	33		採取不能	1,208	採取不能	事故死			
	34		採取不能	1,010	1,116	1,148	1,046	958	1,136
平均			946	848	883	951	1,234	760	971
II	38	4 mg/kg	1,196	1,144	900	1,100			
	39		868	748	事故死				
	40		1,436	972	1,116	1,284			
	41		採取不能	1,062	918	1,144			
	42		1,308	1,026	1,042	1,158	1,550	採取不能	898
平均			1,202	990	994	1,171	1,550		898
対照	54		872	422	1,160	1,008	1,076		
	55		952	1,152	928	766	354		
	56		748	948	1,026	1,218	1,180		
	57		870	1,222	1,396	1,190	1,242	1,254	
	58		採取不能	640	668				
平均			860	877	1,035	1,045	963	1,254	

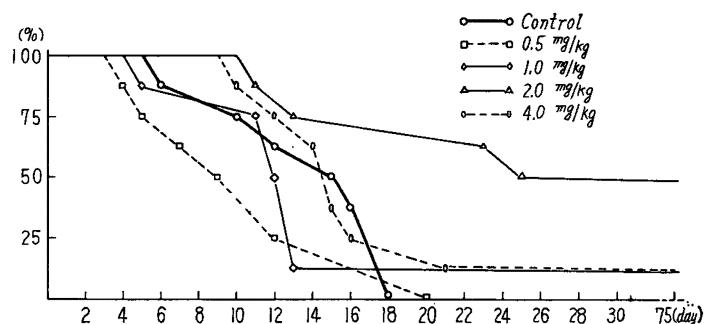
註: 上記癌細胞数は $\times 100/\text{mm}^3$ とする。

とし、各群 8 匹を実験に供した。

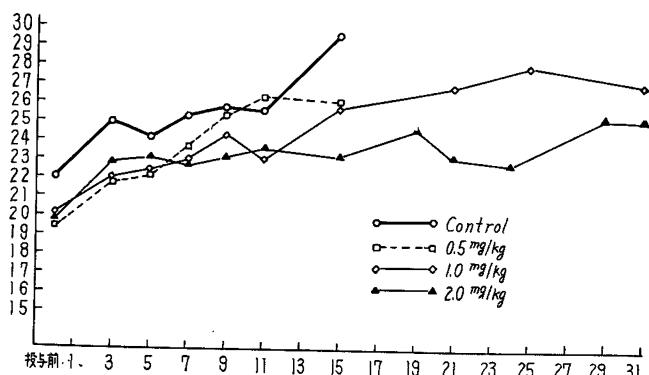
投与回数は最高 40 回、75 日にいたるまで観察後薬殺した。Sarcoma 180 の株は日本プラッドバンク研究部において累代培養したものを使用した。その結果第 4 図に示すように 2.0 mg/kg 投与群ではかなり著明な生命延長がみられ、75 日生存例は 8 例中 3 例である。4.0 mg/kg, 1.0 mg/kg 投与群における 75 日生存例は夫々 1 例であったが生存率曲線は対照と較べて著しい差異はなく、0.5 mg/kg 投与群では却つて悪い成績を示した。体重増加抑制作用は第 5 図に示すように 2.0 mg/kg 投与群で比較的に良好な効果をみることができた。経時的に全実験マウスの腹水中の腫瘍細胞数を計測し平均したものを表示すると、2 mg/kg 投与群では漸減し、2 週以上生存後には著しい減少をみせた。

各群のうち 5 例について細胞数と同時に腫瘍細胞 1,000 個中の細胞分裂像の推移を観察したものが表 3 である。2.0 mg/kg 投与群で治療後 14 日頃に 5 例中 4 例に有糸分裂像の消失をみている。細胞分裂の消失をきたしながら 25 日目に死亡した S 18 は背部に咬創があり、

第 4 図. Sarcoma 180 腹水型移植マウス生存率



第 5 図. 担 Sarcoma 180 腹水型マウス体重増減曲線



事故死例とみなされる。S 17 および S 21 の 75 日生存マウスは剖検的にも腹水の残留をみとめなかつた。

表 3 Sarcoma 180 (腹水型) の COPP 治療による有糸分裂の推移

群	動物番号	分裂期	治療後日数								
			2日	4日	7日	10日	14日	18日	22日	26日	
COPP 0.5 mg/kg	S 1	前期 P 中期 M 後期 A 終期 T	23 2 9 2	36	23 1 3 23	12 1 2 2	17				
	S 2	P M A T	5 0 1 0	6	14 3 2 11	5 0 1 4	10	22 3 3	17	13 1 2	11
	S 3	P M A T	17 1 3 1	22	7 1 4 7	20 5 3 5	33				
	S 4	P M A T	13 5 4 4	26	15 3 3 7	11 1 5 2	19	3 0 0 1	4		
	S 6	P M A T	10 3 7 1	21	19 5 4 4	14 1 4 4	23	5 1 2 0	8	9 4 2 1	16
	S 9	P M A T	12 4 3 1	19	10 19 2 1	12 4 3 4	23	2 0 0 0	2	0 1 0 0	1
COPP 1.0 mg/kg	S 10	P M A T	14 5 10 2	31	22 2 11 5	9 3 3 2	17	4 1 2 1	8		
	S 11	P M A T	10 2 2 3	17	14 3 6 8	12 6 4 1	23	12 1 1 3	17		
	S 12	P M A T	13 4 5 7	29	21 3 6 6	13 1 4 2	20	10 1 2 3	16		
	S 13	P M A T	16 3 4 4	27	20 5 5 6	10 5 2 3	20	16 3 2 5	26		
		細胞数	1,040	902	1,106	7日目死					
		細胞数	1,288	1,380	1,588	774	1,418	1,446	20日目死		
		細胞数	1,226	732	1,060	9日目死					
		細胞数	1,210	1,206	958	530	12日目死				
		細胞数	1,308	882	868	502	412	944	20日目死		
		細胞数	784	340	314	218					75日生存
		細胞数	992	1,058	910	1,348	12日目死				
		細胞数	1,408	1,238	640	1,528	13日目死				
		細胞数	1,544	1,382	618	482	11日目死				
		細胞数	456	1,354	970	350	13日目死				

群	動物番号	分裂期	治療後日数															
			2日	4日	7日	10日	14日	18日	22日	26日								
COPP 2.0 mg/kg	S 17	P M A T	21 3 4 9	37	22 6 9 7	44	12 1 3 2	18	0 0 0 0	0 0 0 0								
		細胞数	994		1,132		832		262									
	S 18	P M A T	27 6 9 12	54	23 5 8 11	47	7 0 0 0	7	0 0 0 0	0 0 0 0								
		細胞数	1,310		918		198		50									
	S 19	P M A T	17 2 7 3	29	18 7 3 8	36	7 1 1 3	12	10 2 3 6	21	12 4 6 4	26	17 3 5 6	31	2 0 1 0	3		
	S 20	P M A T	31 6 9 6	52	20 8 5 5	38	11 2 8 1	22	3 0 0 1	4	0 0 0 0	0					23日目死	
		細胞数	726		498		636		732									
	S 21	P M A T	18 3 4 6	31	11 1 2 12	26	0 0 0 1	0	採取不能	0 0 0 0	0							75日生存
		細胞数	1,104		742		100											
	S 33	P M A T	22 1 4 1	28	17 3 3 4	27	29 3 5 4	41	18 4 7 2	31	8 3 6 4	21	15 7 3 4	29				
対照群	S 34	P M A T	19 2 9 6	36	18 7 5 9	39	26 8 12 5	51	16 2 5 1	24	9 2 4 4	19	14 1 6 4	25				
		細胞数	1,122		992		680		1,308		1,058		1,550		18日目死			
	S 35	P M A T	20 2 3 3	28	17 5 4 6	32	37 3 4 5	49	24 5 4 3	36	16 2 1 3	22						
		細胞数	1,048		1,342		1,934		1,182		1,516		1,922		15日目死			
	S 36	P M A T	25 1 6 4	36	20 4 5 4	33	29 6 4 3	42	19 3 4 3	29	21 2 7 1	31						
		細胞数	1,230		1,276		1,364		744		1,438		1,202		18日目死			
	S 37	P M A T	21 10 9 12	52	27 8 6 7	48	39 6 8 3	56	36 5 2 5	48								
		細胞数	1,008		1,194		1,846				1,438		12日目死					

註：上記腫瘍細胞数は $\times 100/\text{mm}^3$ とする。

有糸分裂数は腫瘍細胞 1,000 個中の総数で示す。

3. AH 272 に関する考察

体重 80~100 g の呑竜系ラット（雌）を用い、移植 4 日目の純培養状態の腹水 0.1 cc を腹腔内に接種し、移植後 24 時間目から治療を開始した。投与法は 2.5 mg/kg および 5.0 mg/kg の 2 群とし各群 15 匹に連日腹腔内投与を試み、投与回数は最高 25 回として放置した。なお AH 272 は佐々木研究所より株の分与を受けた。

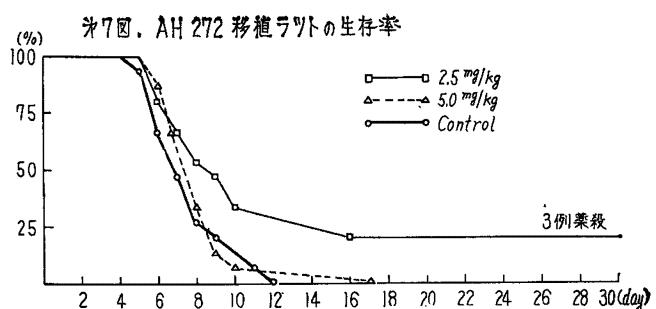
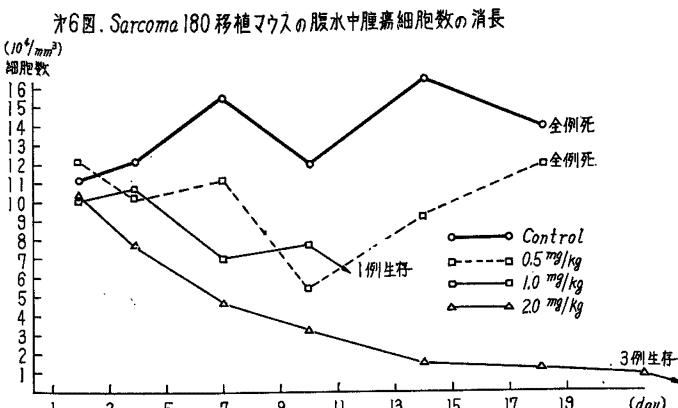
生存ラットは 30 日目に薬殺し治療ラットの生存率を図示すると第 7 図のとおりである。平均生存日数は対照群の 7.8 日に対して 2.5 mg/kg 投与群では 13.2 日以上、5.0 mg/kg 投与群では 8.5 日を示した。2.5 mg/kg 投与群において 30 日生存例を 15 例中 3 例にみとめたが薬殺剖検時腹水貯留は極めて少量で、顕微鏡的に癌細胞は消失しており、腹腔内に腫瘍形成は全くみとめられなかつた。

むすび

腹水型実験癌として EHRLICH 癌、Sarcoma 180 および AH 272 の 3 種を用い COPP の抗腫瘍性を検討した。

COPP の有効薬用量は 2.0 mg/kg 附近にあることを確認し、Sarcoma 180 に対しては中等度の、AH 272 および EHRLICH 癌に対しては軽度の延命効果をみとめた。Sarcoma 180 の実験においては細胞分裂像、腫瘍細胞数の消長を観察し良好な結果を得た。しかし腹腔内への薬剤投与により細胞増殖抑制の効果は治療 10 日以降に出現している。

細胞毒アルキル化剤による急激な腫瘍細胞の変性崩壊とは明かに異なるものと想定される。すでに ^{60}Co -プロトポルフィリンの体内分布を測定しエールリッヒ腹水癌および結節癌に対する親和性のあることをみとめたが⁶⁾、



倉田ら⁶⁾は細胞単位において細胞膜の不溶性リボ蛋白と結ぶことを報じている。従つて COPP の作用機転の因子として癌細胞の呼吸系に及ぼす影響も想定され、金属ポルフィリン体の検討のしるべきをなすであろう。

文 献

- 1) 水野伝一ほか：日本癌学会癌シンポジウム発表、1958.
- 2) 飯島 登：臨床外科、15, 343, 1960.
- 3) 神前武和：ポルフィリン及金属ポルフィリンに関する研究、金原、昭 29.
- 4) 佐古英二：十全医学会誌、67, 384, 1961.
- 5) 高橋正宜ほか：Chemotherapy 10, 82, 1962.
- 6) 倉田自章ほか：Chemotherapy 投稿中、personal communication.