

制癌剤の骨髓に及ぼす影響に就いて

—骨髓組織培養法による研究—

中 嶋 正 温

京都府立医科大学河村外科教室

(主任：河村謙二教授)

(昭和 40 年 1 月 26 日受付)

本論文の要旨は第 91 回近畿外科学会及び第 10 回日本化学療法学会中日本支会総会並びに第 11 回日本化学療法学会総会に於いて発表した。

第 5 章 結 論
文 献

目 次

第 1 章 緒 言	
第 2 章 実験材料並びに方法	
第 1 節 実験材料	
1) 培養組織	
2) 血 清	
3) 塩類溶液	
4) 薬 剤	
第 2 節 観察方法	
1) 培養方法	
2) 有核細胞数の変動	
3) 墨粒貪喰能	
4) 形態学的観察	
第 3 章 実験成績	
第 1 節 培養液に直接添加せる制癌剤が骨髓細胞に及ぼす影響	
第 1 項 抗 生 剤	
第 1 目 Mitomycin	
第 2 目 Toyomycin	
第 3 目 Carzinophilin	
第 4 目 小 括	
第 2 項 化 学 剤	
第 1 目 Tespamin	
第 2 目 Nitromin	
第 3 目 Merphyrin	
第 4 目 RC-4	
第 5 目 小 括	
第 3 項 小括並びに考按	
第 2 節 全身的投与時の骨髓細胞に及ぼす影響	
第 1 項 投与終了直後の影響	
第 2 項 投与終了 1 週後の影響	
第 3 項 投与終了 2 週後の影響	
第 4 項 小括並びに考按	
第 4 章 総括並びに考按	

第 1 章 緒 言

悪性腫瘍の治療法の完成は、医人積年の願望であるばかりでなく、亦現代医学の最大の課題でもある。この目的の為に今日種々広範囲に亘り努力がなされているが、外科的根治手術療法が最も優れている事は論を俟たぬ。しかし所謂廓清手術に期待出来る根治性の限界に就いては漸く認識が改められようとしているが、手術療法のみでは不十分な点が多く、これと共に放射線療法、種々の制癌剤による化学療法も併せ行なう事により、よりその効果を期待すべく、亦その必要性が強調せられるに至っているのが現在の医学の実状である。

1946 年 Nitrogen-mustard によつてその端緒を開かれた化学療法も、その後種々の抗腫瘍性物質が発見されたが臨床的に応用され、且その効果を期待されているものは現在なお数指を数えるに過ぎない。しかるにこれら薬剤の悪性腫瘍に対する作用もさる事ながらその投与による副作用の発現も亦見逃す事の出来ぬ事実であり、その為初期の目的量も投与出来ず中止の止むなきに至ることがままある。その副作用の 1 つは白血球減少である。著者はこの問題を検討する為骨髓液体浮游培養法を用い検討を加えた。因みに組織培養は古く 1884 年 ROUX¹⁾の幼鶏の髓板をとり出しその温食塩水中での発育の観察に始り、1907 年 HARRISON²⁾が蛙の神経線維をリンパ内で成長せしめたのが始まりであり、その後多くの学者³⁻⁸⁾によりその基礎が確立され種々多方面の研究に用いられている。組織培養による研究方法はその生態機能把握の上に於いて極めて優れた方法であり、且有意義であるといえる。更に組織培養を骨髓に應用したのは 1910 年 CARREL & BURROW⁹⁾等による。その後 FOOT¹⁰⁻¹²⁾等の研究があるが 1936 年 OSGOOD¹⁴⁾は骨髓浮游培養に成功しその後改良が加えられ¹⁵⁻¹⁹⁾、本邦に於いても平木一門²⁰⁻²²⁾等の研究がある。

著者は先ず培養骨髓細胞に各種制癌剤を添加しこれら薬剤に対する骨髓細胞の態度と発育状態、更に形態機能

両面より観察した。次いで既に制癌剤投与をうけた生体より骨髓細胞を採り出しその態度を観察，更に制癌剤投与後の休業期にある，即ちその影響を脱しつつある骨髓細胞の態度をも観察した。

第2章 実験材料並びに方法

第1節 実験材料

1) 培養組織

実験動物は総て健康幼雄性白色家兎を使用した。なお末梢血液検査の結果が正常範囲のものをもって実験を行なつた。

骨髓細胞の採取は大腿骨骨髓を無菌的に採取し，これを HANKS 氏液にて十分洗滌し，ガラスホモゲナイザーにて骨髓をホモゲナイズし，得られた液をスピッツグラスに分注し，1,000 回転 5 分間遠沈後上清表層を取り除き，沈渣を HANKS 氏液に浮游，よく混和し均等なる細胞浮游液を作製，培養材料とした。

2) 血清

健康成熟白色家兎より採血，3,000 回転 10 分間遠沈。血清は実験当日採取を原則とした。

3) 塩類溶液

HANKS 氏塩類溶液を用いた。その組成は第1表の通りである。

B, C を混じこれに A を加えて総量を 1,100 ml とした。用に臨み蒸留水で 10 倍に稀釈し，10 ポンド 10 分間蒸気滅菌，滅菌後 1.4% NaHCO₃ 液で pH を調整，pH 7.2~7.6 となるよう調整した。

4) 薬剤

著者は現在使用の制癌剤を抗生剤と化学剤の2群に大別した。前者に Mitomycin C (以下，MC と略記，協和醸酵製)，Chromomycin A₃ (Toyomycin, 以下，TM と略記，武田製)，Carzinophilin (以下，CZP と略記，協和醸酵製) を，後者に Nitromin, Methyl-bis (β-chloroethyl) amin N-oxide hydrochloride (以下，NMO と略記，吉富製)，Tespamin, N, N', N''-Triethylen thiophosphoramidate (以下，TESPA と略記，住友化学製)，Merphyrin, Hg-Haematoporphyrin-Na (以下，MH と略記，第一製)，RC-4 (p-phenylene diphospho-

ric acid tetra-cthyleneimid, 三共製) を含めその各々に就いて実験を行なつた。

これら薬剤を滅菌蒸留水で稀釈し，最終培地濃度がそれぞれ 0.01, 0.1, 1, 10, 100, 1,000, 2,000, 5,000 mcg/ml となる如くに稀釈した。対照群に対しては薬剤の代りに滅菌蒸留水を添加した。

第2節 観察方法

1) 培養方法

木村等²⁸⁻²⁹⁾による単層培養法 (Monolayer culture) に準じた。

即ち短試験管内に HANKS 氏液を 0.6 ml, 家兎血清を 0.2 ml, この両者をよく混和したものを培地とし，これに骨髓浮游液 0.1 ml を添加し，更に前述の如く各濃度の制癌剤溶液を 0.1 ml 添加し総量 1.0 ml となるように分注した。なお短試験管内 1 ml 中に平均 600,000~800,000 個の骨髓有機細胞数が含まれるよう白血球計算用メランヂュール及び BÜRCKER-TÜRCK 氏計算盤を用いて調整した。

以上分注せる試験管にゴム栓を施し 37°C の孵卵器にて静置培養した。培地の pH は骨髓細胞の生存と制癌剤の作用に至適と考えられる 6.8~7.2 に調整した。

2) 有核細胞数の変動

制癌剤の影響を端的に把握するため先ず有核細胞数測定を行なつた。即ち短試験管内の骨髓細胞が均等になるようにピペettingし，TÜRCK 氏液にて染色有核細胞数の増減状態を時間的に算定した。算定は培養直前，培養開始後 3, 6, 12, 24, 48, 72, 96, 122, 144 時間の 10 回で培養直前の値を 1.00 としこれに対する有核細胞数の増減比率 (比較増減率) を求めた。

3) 墨粒貪喰能

墨汁粒子は細胞に摂取される場合に細胞に対して殆ど無害である事と，観察が非常に容易であるという事から広く貪喰現象が研究に應用されている。

著者は墨汁を培地に培養直後に添加，継時的に培養液を摂り出し海野氏穴明載物硝子を用い鏡検観察した。墨汁は良質の古梅園製紅花墨を HANKS 氏液で磨り濾過滅菌したものを使用した。

貪喰能の強さは谷³⁰⁾の法に従い墨粒子を小，中，大，巨大の4段階に分け，顆粒球 100 個を算え杉山³¹⁾の法により平均貪喰度を算出した。即ち顆粒細胞内の墨粒貪喰の強さにより (一)，(+)，(++)，(###) の4段階に分け細胞 100 個を数えた。例えば 100 個の内 (一) が 20 個，(+) が 20 個，(++) が 35 個，(###) が 25 個だとすれば平均墨粒貪喰度は，

$$\frac{(0 \times 20) + (1 \times 20) + (2 \times 35) + (3 \times 25)}{100} = 1.65$$

= 平均墨粒貪喰度

第1表 HANKS 氏塩類溶液

A)	CaCl ₂	1.4 g
	Aq. dest.	100 ml
B)	Glucose	10.0 g
	NaCl	80.0
	KCl	4.0
	MgSO ₄ ·7 H ₂ O	2.0
	KH ₂ PO ₄	0.6
	Na ₂ HPO ₄ ·2 H ₂ O	0.6
	Aq. dest.	800.0 ml
C)	0.2% PR	100 ml

となる。

4) 形態学的観察

制癌剤投与による造血器、殊に骨髓への影響に就いては、骨髓像の変化としての報告を見るが骨髓細胞が如何なる経過を辿つて変性に陥るかを継時的に観察したのは僅かに楠本³²⁾、白羽³³⁾の報告をみるにすぎない。

ここに著者は培養骨髓細胞の継時変化を追求するため海野氏穴明載物硝子を用いて生鮮標本を作製、位相差顕微鏡による観察を行なつた。この場合は特に制癌剤の影響を受け易い顆粒細胞に就いて観察し、細胞体の顆粒状態(顆粒の集合)、空泡変性、偽足状突起の出現、萎縮、低位相差、崩壊溶解状態等を注意するとともに、核に就いてはその無構造化、萎縮状態等を中心に観察した。これら変性状態のうち萎縮とは形態の縮少を、崩壊とは細胞体外に細胞内容の流出してしまふ事を、溶解とは細胞の構造即ち位相差が乏しくなり遂に消失してしまふ状態を現わしている。

変性の度合は(一)、(+), (H), (H), (H), (H)の6段階に分けてあるが、観察した一定数の細胞に全然変化のないものを(一)、変化の極めて軽度なものを(+), 25%の細胞に変化のあるものを(H), 50%程度のもを(H), 75%程度のもを(H), 殆ど全ての細胞に変化のあるものを(H)とした。なお(一)に就いては表中に無記載とした。

第3章 実験成績

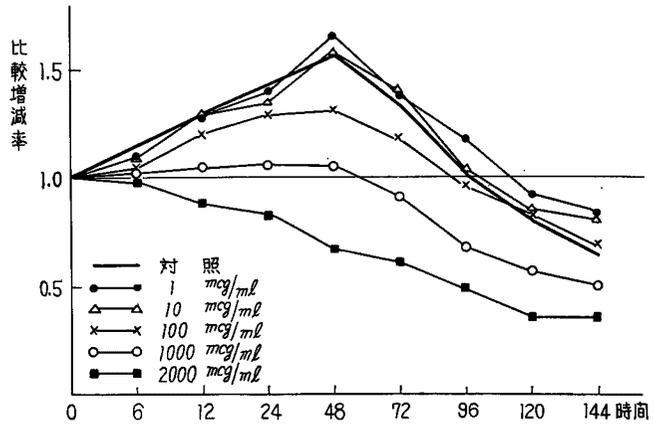
第1節 培養液に直接添加せる制癌剤が骨髓細胞に及ぼす影響

第1項 抗 生 剤

第1目 Mitomycin (MC)

有核細胞数: 1 mcg, 10 mcg の濃度に於いては対照に比しむしろ増生の傾向が著しく、培養 48 時間目には対照の 1.57 に対して夫々 1.65, 1.59 の増生率を示し、この時点ピークとしてその後次第に低下、培養 96 時間目には殆ど培養前の値にまで漸減する。その後時間の経過と共に更に低下の一途を辿るが 144 時間目に至るも尚、対照より高値を示していた。一方 1,000 mcg では培養初期より殆ど増減傾向なく不変で

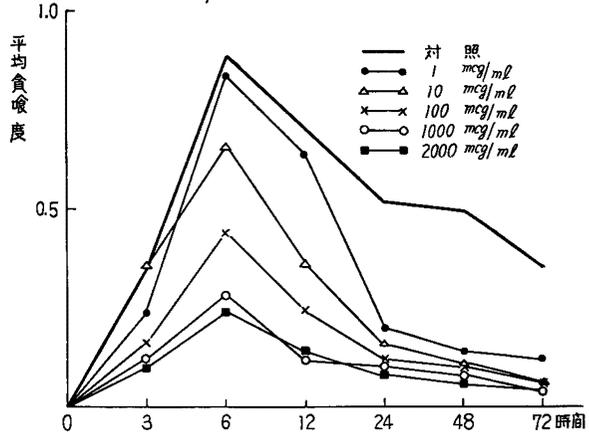
第1図 Mitomycinの有核細胞数に及ぼす影響



第2表 Mitomycinの有核細胞数に及ぼす影響

時間	濃度	対 照	1 mcg	10 mcg	100 mcg	1,000 mcg	2,000 mcg
0		1.00	1.00	1.00	1.00	1.00	1.00
6		1.15	1.10	1.10	1.04	1.03	0.99
12		1.30	1.29	1.30	1.20	1.05	0.89
24		1.42	1.40	1.36	1.29	1.06	0.83
48		1.57	1.65	1.59	1.31	1.05	0.67
72		1.33	1.39	1.40	1.19	0.91	0.61
96		1.01	1.18	1.03	0.96	0.68	0.49
120		0.80	0.92	0.85	0.82	0.57	0.36
144		0.64	0.83	0.80	0.69	0.50	0.36

第2図 Mitomycinの墨粒喰食能に及ぼす影響



第3表 Mitomycinの墨粒喰食能に及ぼす影響

時間	濃度	対 照	1 mcg	10 mcg	100 mcg	1,000 mcg	2,000 mcg
3		0.63	0.24	0.36	0.16	0.12	0.10
6		0.88	0.84	0.66	0.44	0.28	0.24
12		0.70	0.64	0.36	0.24	0.12	0.14
24		0.52	0.20	0.16	0.12	0.10	0.08
48		0.50	0.14	1.10	0.10	0.08	0.06
72		0.36	0.12	0.08	0.06	0.04	0.04

あるが、やはり 72 時間目以後急速に増生率の低下を認める。更に 2,000 mcg の濃度に至つては当初より減少するのが認められる (第 2 表及び第 1 図)。

墨粒負喰能 : 1 mcg では対照に稍々劣る程度であるが

10 mcg よりその傾向が大となり、殊に 1,000 mcg, 2,000 mcg に於いては機能抑制が一層著明である (第 3 表及び第 2 図)。

形態的变化 : 1 mcg の濃度に於いては培養 12 時間ま

第 4 表 Mitomycin の形態学的影響

	時間	顆粒集合	空泡	偽足	萎縮	低位相	崩壊溶解	核構造	核無縮
1 mcg	6								
	12	+				+			
	24		+			+	+		
	48		++			+	+		
	72		++			+	++		
	96		++	+		++	++		
	120		+	+		++	##		
	144		++	+		++	##		
10 mcg	6		+	+		+			
	12		+	+		+	+		
	24		+			+	+		
	48		+			+	+		
	72		++	+		+	++		
	96		+	+		++	++		
	120		+	+		++	##		
	144		++	+		++	##		
100 mcg	6		+						
	12		+				+		
	24		+			+	+	+	
	48		++			+	+	+	
	72		++	+		+	++	+	
	96		++	+		+	##		
	120		++	+		++	##		
	144		##			##	##		
1,000 mcg	6		+	+		+	+		
	12		+			+	+	+	
	24		+			+	++	+	
	48		+			+	##	+	
	72		++	+		+	##	+	
	96		++	+		++	##	+	
	120		++	+		++	##	+	
	144		++	+		++	##	+	
2,000 mcg	6		+			+	+		
	12		++	+		+	++	+	
	24		++	+		+	++		
	48		++	+		+	##	+	
	72		+	+		+	##	+	
	96		++	+		++	##		
	120		++	+		++	##	+	
	144		##	+		++	##	+	

第 5 表 Toyomycin の形態学的影響

	時間	顆粒集合	空泡	偽足	萎縮	低位相	崩壊溶解	核構造	核無縮
0.01 mcg	6								
	12		+						
	24		+				+		
	48		+				+	+	+
	72		+	+			+	+	
	96		+	+			++	++	
	120		+	+			+	++	
	144		+	+			+	##	
0.1 mcg	6		+				+		
	12		+				+	+	
	24		+				+	+	
	48	+	+				++	+	+
	72		++	+			++	++	+
	96		+	+			++	##	
	120		+	+			##	##	
	144		++	+	+		++	##	
1 mcg	6		+	+			+		
	12		+				+	+	+
	24		++	+			+	+	
	48	+	++	+			++	++	+
	72		++	+			++	++	+
	96		+	+			++	##	
	120		+				##	##	
	144		++	+	+		++	##	
10 mcg	6		+	+			+		
	12		+				+	++	
	24		++				+	++	
	48		++	+	+		+	##	+
	72		++	+			++	##	+
	96		+	+			##	##	
	120		+				##	##	+
	144		++		+	+	##	##	
100 mcg	6		+				+		
	12		+	+			+	++	
	24		++				+	##	
	48		##	+	+		+	##	+
	72		++	+			+	##	+
	96		++	+			++	##	
	120		++	+			++	##	+
	144		##	+			##	##	

では変性が比較的少く低位相差をみるにすぎないが、時間の経過と共に空泡形成、低位相差、崩壊溶解像の増加が認められる。しかるに 10 mcg ではすでに当初から低位相差ばかりでなく偽足状突起、空泡変性像がみられ、更に高濃度の 100 mcg, 1,000 mcg になると一層その傾向が著しく、且核の無構造化を証明、2,000 mcg の濃度では細胞の崩壊溶解が著明で核のみの存在を認める事が多い(第4表)。

第2目 Chromomycin-A₉ (Toyomycin) = TM

有核細胞数: 0.01 mcg, 0.1 mcg の低濃度では培養 48 時間目までは対照に比しより発育促進的に働き、以後対照と殆ど同様の値を示しながら減少する。1 mcg ではやや増加の傾向あるも対照値には及ばない。10 mcg, 100 mcg では当初より減少を、100 mcg 48 時間ですでに 0.66 の低値を示す程の抑制が見られ、薬剤の影響が著しい事がわかる(第3図)。

墨粒貪食能: 0.01 mcg, 0.1 mcg 共に薬剤の影響少く、10 mcg に至るとその機能低下が認められ、濃度の増加と共に抑制が著しくなる(第4図)。

形態的变化: 0.01 mcg の低濃度で且培養初期には殆どその変化を認めないが、48 時間目頃より空泡形成、低位相差、崩壊溶解像を認めるようになる。然し 0.1 mcg, 1 mcg 以上になると空泡形成を中心とした膨化溶解が見られるが核の変化は比較的少い(第5表)。

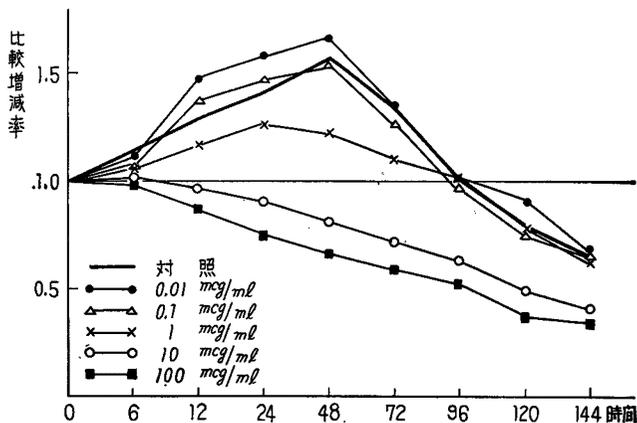
第3目 Carzinophilin (CZP)

有核細胞数: 0.01 mcg では殆ど対照に近い増生率を示すも培養 24 時間で 1.36, 48 時間で 1.51 の値を示し対照の 1.42, 1.57 に比し軽度抑制を見る。0.1 mcg 以上の高濃度になるに従い増生率の低下が著しく、10 mcg では 12 時間で既に 1.00 以下に減少するのが認められる(第5図)。

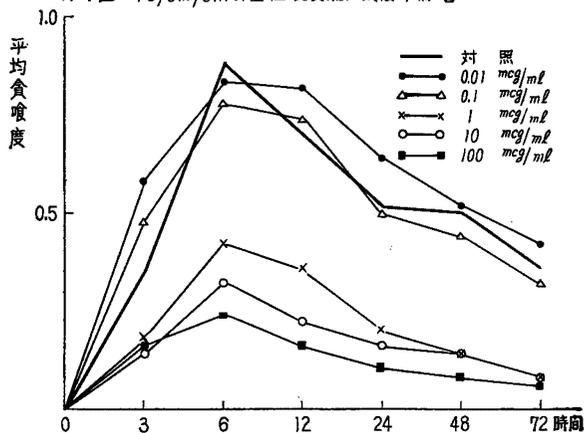
墨粒貪食能: 0.01 mcg より既に機能抑制有り。10 mcg では最高値 0.22 を示すにすぎない程の抑制を認める(第6図)。

形態的变化: 0.1 mcg, 1 mcg で培養 24 時間には顆粒集合、空泡形成、萎縮像から更に崩壊溶解への著明な変性像が見られ、更に 10 mcg, 100 mcg に至つては崩

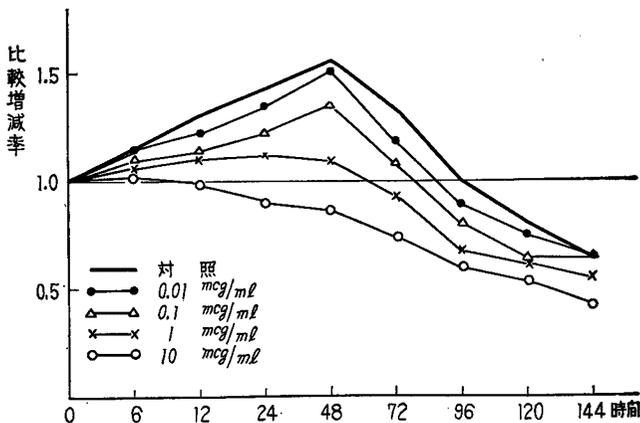
オ3図 Toyomycinの有核細胞数に及ぼす影響



オ4図 Toyomycinの墨粒貪食能に及ぼす影響



オ5図 Carzinophilinの有核細胞数に及ぼす影響

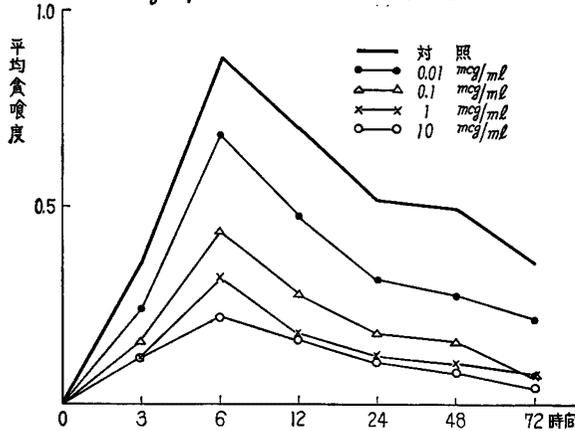


壊溶解著しく核の無構造並びに萎縮が著明である。即ち濃度の高まるにつれ細胞体、核共に障害が著明である事を認める(第6表)。

第4目 小 括

MC は 1956 年、秦⁸⁴⁾らにより *Streptomyces caespit-*

第6図 Carzinophilinの墨粒喰食能に及ぼす影響



第6表 Carzinophilinの形態学的影響

	時間	顆粒集合	空泡	偽足	萎縮	低位相	崩壊溶解	核無構造	核萎縮
0.1 mcg	6								
	12								
	24	+		+	+	+	+		
	48	+	+		+	+	+		
	72		+	+	+	+	+	+	+
	96		+	+	+	+	卍		
	120		+	+		+	卍		
144		+	+			卍			
1 mcg	6								
	12	+	+						
	24	+	+		+	+	+		
	48		+	+	+	+	+	+	
	72		+	+	+	+	+	+	+
	96		卍	+	+	卍	卍	+	+
	120		卍	+	+	卍	卍		+
144		+	+	+	+	卍	+		
10 mcg	6								
	12		+				+		
	24		+			+	+	+	
	48		+	+		+	+	+	
	72		卍			卍	卍	+	+
	96	+	+			卍	卍	+	卍
	120		卍	+		卍	卍	+	
144		+		+	+	卍	+		
100 mcg	6								
	12					+	+		
	24					+	+	+	
	48	+		+		+	卍	+	+
	72			+		卍	卍	+	+
	96					卍	卍	+	+
	120			+		卍	卍	+	
144					+	卍	+		

tosus から産生された抗生物質で、それより早く報告された Mitomycin A 及び B などと異り、殊に癌細胞の発育増殖に対して強い阻止作用を有し、水溶液で pH 6~8 で安定な物質である。静脈内投与で腹水癌に対しては 40~1,000 mcg/kg の投与量で有効であり、一般成人に対する投与量は 2~6 mg 静脈内投与とされている。これより著者は 1~2,000 mcg までの濃度系列を作成、MC 添加により骨髓細胞への影響を観察した。

即ち 1~10 mcg の低濃度に於いては培養骨髓細胞に対する薬剤の影響が比較的少く、有核細胞数、墨粒喰食能等で対照と殆ど有意の差を認めない。一方濃度が 100 mcg になるとその影響著しく有核細胞数の増生率が低下し、喰食能の機能低下も亦同様認められる。更に濃度が 2,000 mcg 以上ではその障害が極に達した観が有り種々機能の低下を認める。更に細胞に与える影響を形態面から追究すると細胞質のみならず、核への影響も非常に大である。概して変性過程は低位相差から容易に溶解するのが見られる。唯 1~10 mcg の低濃度に於いては機能亢進が認められ注目値する。

TM は 1951 年、柴田、三宅等³⁵⁾により *Streptomyces griseus* No. 7 から産生された物質である。腹水癌に対しては 10~50 mcg/kg の微量 1 回腹腔内投与で著明な細胞効果を示すといわれており、一般成人に対する静脈内投与量は 0.5 mg/1 回である。従つて著者は 0.01~100 mcg までの濃度系列を作り添加骨髓細胞の影響を観察した。

即ち 0.01 mcg, 0.1 mcg の低濃度に於いては有核細胞数、喰食能に殆ど影響をみず、1.0 mcg の濃度に至つて機能抑制を認め、10 mcg, 100 mcg に至ると更にその影響は著しい。これは喰食能の低下度とはほぼ平行した結果を得た。一方形態的变化に就いては、0.01 mcg では余り変化なく、1 mcg の濃度以上になると影響著しく細胞質の崩壊溶解像が見られるが核の変化は比較的少なかった。

CZP は 1953 年、秦ら³⁶⁾により *Streptomyces sahachiroi* から発見されたものである。普通一般に投与される量は 10~50 mcg で静脈内、動脈内、腹腔内に投与されており、これより著者は 0.01~10 mcg までの濃度系列を作り培地に添加その影響を観察した。

0.01 mcg の低濃度に於いては殆ど影響なく対照と変わらない。0.1 mcg 以上になると機能抑制が現われ、墨粒喰食能に於いては殊に機能低下が著しい。亦形態的变化は低濃度に於いては殊に機能低下が著しい。即ちその変化は低濃度に於いて、顆粒集合から空泡形成が見られ、

且核の無構造化が見られた。高濃度では一層崩壊溶解像が著明であつた。

第2項 化学剤

第1目 Tespamin (TESPA)

有核細胞数：1 mcg の濃度では対照と殆ど平行に増減し、12 時間、24 時間ではむしろより増生の傾向有り。10 mcg より次第に機能抑制を認め、1,000 mcg 48 時間ですでに 1.0 を下回る 0.87 を示した。更に 2,000 mcg に至つては培養当初より漸減し 1.0 の値を上回る事はなかつた (第7 図)。

墨粒貪食能：1 mcg, 10 mcg と低濃度程対照に近い値を示し機能低下の程度が少ないが、ただ培養3 時間では各濃度共対照より高い値を示しむしろ培養初期では著しい機能亢進を示している。殊に高濃度程その傾向が大であるが6 時間ではすでにかなりの機能抑制が認められた (第8 図)。

形態的变化 1 mcg では 24 時間、10 mcg では 12 時間目にすでに細胞質の空泡変性、低位相差崩壊溶解像を認める。一方 100 mcg, 1,000 mcg, 2,000 mcg では 24 時間目より核の無構造化を認める。勿論細胞質の変化も同様空泡形成、低位相差、更に崩壊溶解像が著明にみられた (第7 表)。

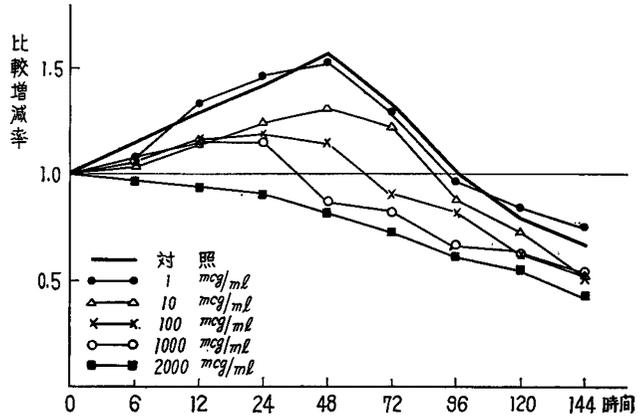
第2目 Nitromin (NMO)

有核細胞数：1 mcg では培養 48 時間値 1.65 と対照の 1.57 より高値を示し、以後も対照値より高い増生率を示し發育促進をみる。10 mcg ではほぼ対照に近く、100 mcg 以上では抑制傾向が次第に現われ、2,000 mcg, 5,000 mcg では当初より増生率の低下を見、發育抑制が著しい (第9 図)。

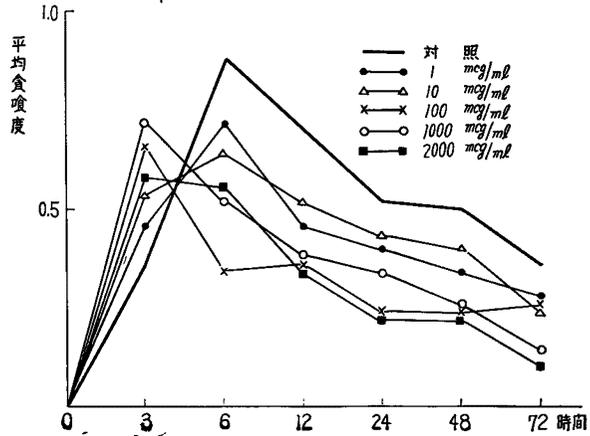
墨粒貪食能：1 mcg でやや軽度の機能低下を認めるが対照に近い貪食能を示す。一方 10 mcg, 100 mcg, 1,000 mcg の3 時間値では対照より高値を示すも以後機能低下著しく、5,000 mcg では終始 0.14 乃至 0.18 の低値に止まる (第10 図)。

形態的变化：1 mcg, 10 mcg, 100 mcg では 12 時間、24 時間で核の無構造化を認めるが、細胞質の変化は比較的少ない。一方 1,000 mcg, 5,000 mcg の高濃度では空泡形成、崩壊溶解像、亦低位相差像も著明に見られる。但し低濃度に於いても時間の推移と共に次第に高濃度の

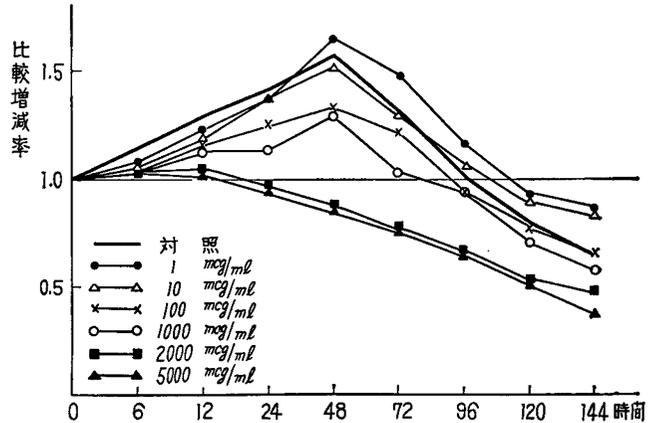
カ7 図 Tespamin の有核細胞数に及ぼす影響



カ8 図 Tespamin の墨粒貪食能に及ぼす影響



カ9 図 Nitromin の有核細胞数に及ぼす影響



場合と同様空泡形成、崩壊溶解像が著明に現われた (第8 表)。

第3目 Merphyrin (MH)

有核細胞数：1 mcg では対照より高値を示し發育促進を認める。10 mcg, 100 mcg で軽度の發育抑制を見、

2,000 mcg, 5,000 mcg では当初より細胞数の増加なく減少傾向のみ見られ, 発育抑制の著しい事がわかる (第 11 図)。

墨粒貪喰能: 1 mcg では対照とほぼ近い経過を辿り,

10 mcg では軽度機能抑制有り。100 mcg 以上では抑制が一層著しく殊に 5,000 mcg では最高 0.12 の低値に止まり, 機能低下が著明であつた (第 12 図)。

形態的变化: 1 mcg の低濃度では当初より偽足状突起

第 7 表 Tespamin の形態学的影響

	時間	顆粒集合	空泡	偽足	萎縮	低位相	崩壊溶解	核無構造	核萎縮
1 mcg	6								
	12								
	24		+		+	+			
	48		+			+	+		
	72		++			+	+		
	96		+	+		+	++		
	120		+	+		++	+++		
	144		+	+	+	++	+++		
10 mcg	6								
	12		+			+	+		
	24		+			+	+		
	48		+			+	+		
	72		++			+	++		
	96		+	+		++	+++		
	120		+	+		+	+++		
	144		++	+		++	+++		
100 mcg	6						+		
	12		+			+	+		
	24		+			+	++		
	48		+	+		+	++	+	
	72		++		+	++	++	+	
	96		+			+	+++		
	120		++	+		++	+++		
	144		++			++	+++		
1,000 mcg	6					+	+		
	12					++	++		
	24		+			++	++	+	
	48		+			++	+++	+	
	72	+				+++	+++	+	
	96					+	+++		
	120					++	+++		
	144					++	+++		
2,000 mcg	6		+			+	+		
	12		++			++	++		
	24		+	+		+++	+++	+	
	48		++	+		++	+++	+	
	72					++	+++	+	
	96		+			++	+++	+	
	120		+			++	+++		
	144		+			++	+++		

第 8 表 Nitromin の形態学的影響

	時間	顆粒集合	空泡	偽足	萎縮	低位相	崩壊溶解	核無構造	核萎縮
1 mcg	6								
	12								
	24			+					+
	48		+	+	+	+	+	+	+
	72		+	+	+	+	+	+	+
	96		+	+	+		+	+	+
	120		+	+			+	+	+
	144		+				+	+++	
10 mcg	6			+					
	12							+	
	24			+				+	+
	48		+	+	+	+	+	++	+
	72		+	+	+	+	+	++	
	96		++	+	+	+	+	++	
	120		+				+	++	+
	144		+				+	+++	
100 mcg	6			+					
	12		+				+	+	+
	24			+			+	+	+
	48		+				+	++	
	72		+				+	++	
	96		+	+	+	+	+	+++	
	120		+	+	+	+	+	+++	
	144		++				+	+++	
1,000 mcg	6							+	
	12		+				+	++	
	24		+				+	++	
	48		+	+			+	+++	
	72		+	+			+	+++	
	96		+	+	+		+	+++	
	120		++				+	+++	
	144		++				+	+++	
5,000 mcg	6		+					++	
	12		++		+	+	+	++	
	24		++				+	+++	
	48		+	+			+	+++	
	72		+	+			+	+++	
	96		+	+	+		+	+++	
	120		++		+	+	+	+++	
	144		+++	+			+	+++	

の出現を見、10 mcg, 100 mcg で空泡形成、萎縮、低位相差を、又核の無構造化もこの濃度で認められた。1,000 mcg, 5,000 mcg では空泡形成、崩壊溶解像が培養当初より認められる。核の変化は比較的少なかった(第9表)。

第4目 RC-4

有核細胞数: 1 mcg, 10 mcg 共に対照と殆ど有意の差を認めないが、むしろ発育促進の傾向を示している。100 mcg で軽度抑制、1,000 mcg, 2,000 mcg では48時間まで殆ど増減せず以後減少する。更に5,000 mcg に至っては当初より減少し発育抑制が著しい(第13図)。

墨粒貪喰能: 1 mcg, 10 mcg, 100 mcg まで殆ど対照に近い値を見るが、1,000 mcg 以上では抑制が著しい(第14図)。

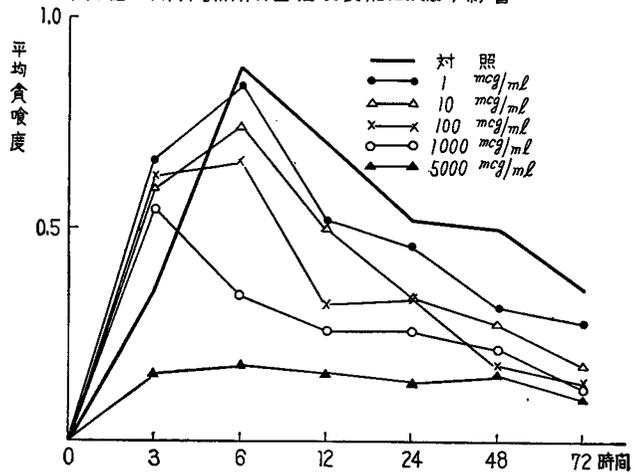
形態的变化: 比較的低濃度の10 mcg よりすでに当初から空泡形成、低位相差、崩壊溶解像が著明に認められるが、一方核の変化は少なかった。濃度の増加と共に上記の変性像が早期から一層著明に見られ、即ち細胞質への影響が著しかった(第10表)。

第5目 小 括

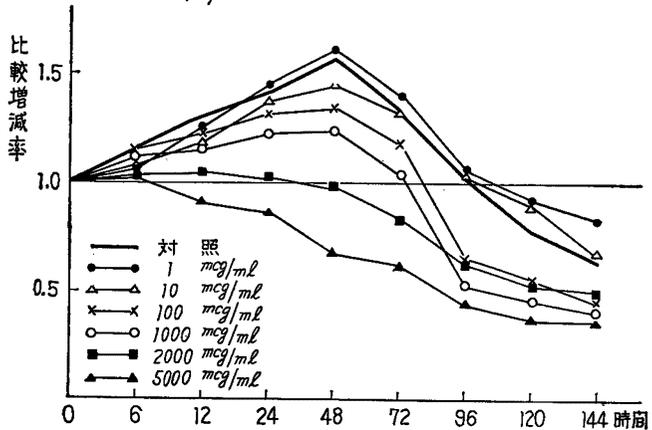
TESPA は 1946~1947 年 BERGMAN⁸⁷⁾ らにより合成されたもので、Triethylen-melamin 系化合物である Triethylen Thiophosphoramidate である。水溶液の pH は 6.5 である。通常一般成人には 1日1回 5mg を静、動脈内に投与されている。よって著者は 1~2,000 mcg の濃度系列を作成、骨髓細胞への影響を観察した。

1 mcg の低濃度では各種機能面に於いて殆ど対照と有意の差を認めない。むしろ有核細胞数の増減傾向は対照に比しより増加の傾向を認め、機能亢進を示している。10 mcg では殆ど対照と同様か、軽度抑制を。100 mcg に至り全面的に機能低下を認める。1,000 mcg 以上の高濃度になると機能抑制が著しく、培養当初より著明に認められる。一方形態面から見るに 1~10 mcg の低濃度でも培養 12~24 時間目からすでに細胞質の空泡形成、位相差に変化を認め、時間の経過と共に崩壊溶解へと推移する。100~1,000 mcg になると核の変性像が著明となり、細胞質の消失と共に無構造の核のみ認められるものがある。即ち低濃度では細胞質に、高濃度で

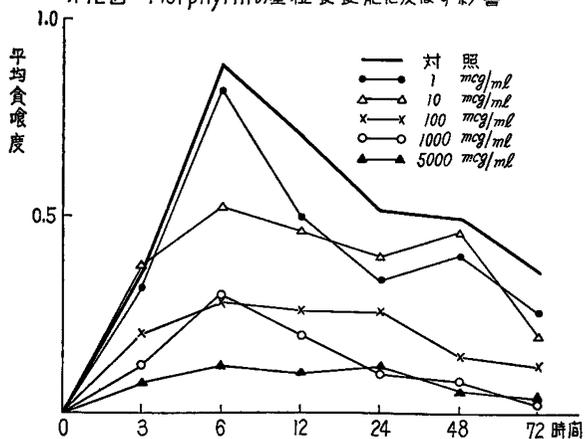
※10図 Nitrominの墨粒貪喰能に及ぼす影響



※11図 Merphyrinの有核細胞数に及ぼす影響



※12図 Merphyrinの墨粒貪喰能に及ぼす影響



は核に強い影響を与える事が分った。

NMO は 1949 年、石館⁸⁸⁾ により合成せられた抗腫瘍性物質 methyl-bis(β -chloroethyl)-amine-N-oxide hydrochloride である。通常一般成人に対しては体重 Pro kg 1mg であるが 1日 50~100 mg が静、動脈内

に投与されている。従つて著者は 1~5,000 mcg の濃度系列を作成、培養液に添加その影響を観察した。

即ち 1 mcg の低濃度では軽度の機能亢進も認める。10 mcg の有核細胞数の増減はほぼ対照に近い。100 mcg

以上の濃度では機能抑制が有り、5,000 mcg では相当の障害を培養当初より認める。一方形態面からの変化は 100 mcg までの低濃度で核の無構造化を現わすに反し、高濃度に於いてはむしろ細胞質への影響が先づ第一に出

第 9 表 Merphyrin の形態学的影響

	時間	顆粒集合	空泡	偽足	萎縮	低位相	崩壊溶解	核無構造	核萎縮
1 mcg	6			+					
	12			+					
	24							+	
	48		+				+	+	
	72		+	+	+	+	+	+	
	96		+	+	+	+	+	+	
	120		+	+	+	+	+	+	
	144		+			+	+	+	
10 mcg	6			+					
	12								
	24		+	+	+		+		
	48		+	+	+	+	+	+	
	72		+	+	+	+	+	+	
	96		+	+	+	+	+	+	
	120		+			+	+	+	
	144		+			+	+	+	
100 mcg	6			+					
	12						+		
	24		+	+		+	+	+	
	48		+	+	+	+	+	+	
	72		+	+		+	+	+	
	96		+	+	+	+	+	+	
	120		+	+		+	+	+	
	144		+			+	+	+	
1,000 mcg	6						+		
	12						+		
	24		+	+		+	+		
	48		+	+		+	+		
	72		+	+		+	+		
	96		+	+		+	+		
	120		+			+	+		
	144		+			+	+		
5,000 mcg	6		+			+	+		
	12		+			+	+		
	24					+	+		
	48		+	+		+	+		
	72		+			+	+		
	96		+			+	+		
	120		+			+	+		
	144		+			+	+		

第 10 表 RC-4 の形態学的影響

	時間	顆粒集合	空泡	偽足	萎縮	低位相	崩壊溶解	核無構造	核萎縮
1 mcg	6								
	12								
	24		+					+	
	48		+					+	
	72		+	+				+	
	96		+	+				+	
	120		+	+				+	
	144		+	+				+	
10 mcg	6		+					+	
	12		+					+	
	24		+					+	
	48		+					+	
	72		+	+				+	
	96		+	+				+	
	120		+	+				+	
	144		+	+				+	
100 mcg	6		+					+	
	12		+					+	
	24		+					+	
	48		+					+	
	72		+	+				+	
	96		+	+				+	
	120		+	+				+	
	144		+	+				+	
1,000 mcg	6		+					+	
	12		+					+	
	24		+	+				+	
	48		+	+				+	
	72		+	+				+	
	96		+	+				+	
	120		+					+	
	144		+	+				+	
5,000 mcg	6		+					+	
	12		+					+	
	24		+					+	
	48		+	+				+	
	72		+					+	
	96		+					+	
	120		+					+	
	144		+					+	

現するという事実である。勿論時間の経過と共に核、細胞質両面への影響が大である事はいうまでもない。

MH は 1954 年、飯島³⁹⁾らにより考按合成せられた抗腫瘍物質の 1 つで、Hg-Haematoporphyrin-Na である。MH は 1,000 倍稀釈水溶液は中性乃至弱アルカリ性を示している。長期使用による MH の毒性は犬に 0.625~1.250 mg/kg, 1 日 1 回または隔日に 1 月間又は 2 月間使用した群に於いて生体諸臓器に肉眼的にも且組織学的にも異常を認めず、殊に血液像にも殆ど影響を認めていない。亦これらの濃度に於いてはむしろ体重の増加すら認められているのが特徴である。通常成人 1 回 25 mg を静、動脈内に投与されている。従つて本実験に於いて 1~5,000 mcg の濃度系列を作成観察した。

1 mcg の低濃度では有核細胞数、貧喰能に就いては、いづれも対照群より、より高度の即ち機能亢進の結果を認めている。しかし 10 mcg より次第に薬剤の影響が現われ、一部では軽度機能亢進を認めるが全般的に抑制が見られた。更に 2,000 mcg 以上では培養当初から機能抑制が著明に認められた。この事は形態面の変化からもうなずける。即ち 1 mcg では比較の変性の出現は緩徐であるが、10 mcg より空泡形成等の細胞質の変化と核の変化とが同時に出現し濃度の増加、又時間の経過と共に一層その変性度が著明にみられた。

RC-4 は 1956 年、砂川等⁴⁰⁾により合成せられた Ethylenimine 系物質である。临床上成人には 1 回 50 mg 静、動脈内投与を行ない使用している。本実験に於いては 1~5,000 mcg の濃度系列を作成観察した。

1 mcg, 10 mcg では諸機能面に於いて殆ど対照と有意の差を認めないが、むしろ機能亢進を、100 mcg では墨粒貧喰能では対照と殆ど近い経過を辿るが他の機能面ではやや抑制傾向が見られ、1,000 mcg 以上では抑制が一層著明となるが、概して抑制傾向が少い事がわかった。一方形態面に於いては 1 mcg では比較的抑制が少いが、10 mcg から抑制傾向有り濃度の増加と共に影響が大である。一方核に対してはその薬剤の影響が少い。

第 3 項 小括並びに考按

抗癌剤を培養液に直接添加し、培養細胞に及ぼす影響を考察した。

Fig. 13 RC-4 の有核細胞数に及ぼす影響

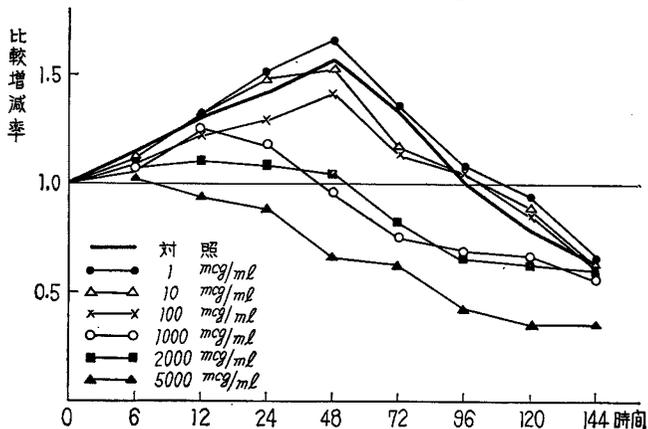
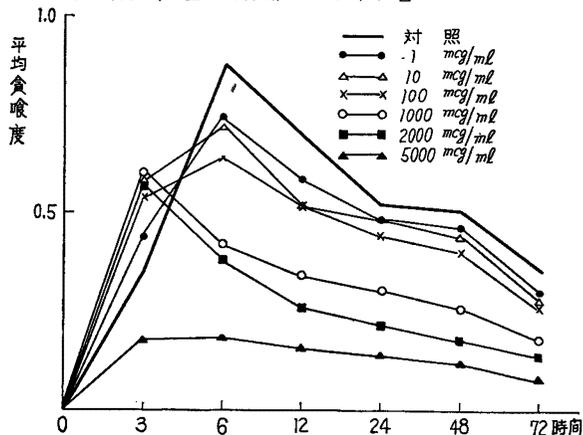


Fig. 14 RC-4 の墨粒貧喰能に及ぼす影響



抗癌剤である MC に就いては泰来⁴¹⁾の吉田肉腫移植ラットに投与しその腫瘍細胞の形態的变化を見た報告があり、小林⁴²⁾によれば培養紡錘形細胞肉腫に直接作用させた時、25 mcg/ml の濃度で培養 3 時間目頃から変化抑制を見、50 mcg/ml の濃度では投与 1 時間後から既に抑制が現れるという。また西村⁴³⁾によれば家鶏胎児の心、脾の組織培養に於いてその総成長係数の観点から検討すると 2 mcg/ml の濃度で既に発育阻止効果が現われ、32 mcg/ml で中等度抑制、500 mcg/ml で完全な発育阻止を認めている。

また今永⁴⁴⁾は癌細胞の感受性テストである INK 法にて 1 mcg/ml の濃度で約 40% の抑制を見ている。楠本³²⁾は鶏の骨髓白血球に *in vitro* で作用させ 0.1 mcg/ml で低位相差、1 mcg/ml 以上の濃度で細胞体の著明な空泡変性、崩壊溶解の抑制像を見、核の変化も同様、低濃度での抑制効果を報告している。その他には骨髓細胞に対して殊に機能面に及ぼす影響に就いての諸家の報告は殆ど見られない。著者の実験では骨髓細胞に対して、

殊に顆粒球に対して 1 mcg/ml の濃度では機能亢進を、10 mcg/ml では軽度抑制を、100 mcg/ml 以上ではかなりの抑制効果を認め、2,000 mcg/ml に至つてその抑制度は極度に達している。

以上 MC は細胞の種類によつて幾分の差はあるが、多少なりともその機能を低下させ分裂増殖を抑制する傾向のあることが暗示されている。楠本も MC の骨髓白血球に対する影響を検討しているが、その作用時間は 3 時間までであり動物腫瘍の発育を抑制して延命効果を發揮し得る投与量という基準に立脚しているため臨床的投与量を基準として行なつた著者の実験より障害度が高いのは当然であろう。

TM に就いては高木⁴⁵⁾によれば HeLa 細胞を培養と同時に作用させ、0.01 mcg/ml を細胞の増殖を抑制する最低濃度とし、0.1 mcg/ml で完全阻止を見ている。又 JTC-4 (RH) 細胞では 0.1 mcg/ml が最低抑制濃度であり、1 mcg/ml で完全な阻止を、0.01 mcg/ml では抑制効果がないという。又 HeLa 細胞に TM を作用させる時間を変え、培養 4 日目に作用させた場合 0.01 mcg/ml では抑制効果が著明に見られなくなり、0.001 mcg/ml では不変、0.1 mcg/ml で完全な阻止を見たという。JTC-4 細胞の 4 日目添加でも 0.1 mcg/ml でかなりの抑制効果を、0.01 mcg/ml でも稍抑制あり。即ち HeLa 細胞の場合なるべく早期に作用させる程その抑制効果が大きい。太中⁴⁶⁾は人癌の INK 法にて 5 mcg/ml で 50%、50 mcg/ml で 80% 有効なる抑制効果を見ている。ところで培養骨髓細胞に直接添加し、その影響を見た報告は殆どないが、著者の実験に於いては 0.01~0.1 mcg/ml の濃度では殆ど諸機能面で影響を見ない。10 mcg/ml で軽度抑制が現われ、100 mcg/ml で著明な抑制作用あり、又形態面でも機能面と同様、同程度の濃度で著明な変化を与えるように思われる。

CZP に就いては西村⁴⁹⁾は家鶏胎児の心、脾への影響は 16 mcg/ml で成長抑制が始り、2,000 mcg/ml で完全阻止を見ている。太中⁴⁶⁾の人癌の INK 法にて 0.015 mcg/ml の濃度で抑制効果 32% である。一方骨髓細胞への影響は谷⁴⁷⁾は比較成長価、遊走速度、生体染色、墨粒貪喰能等の諸機能検査の結果 0.01 mcg/ml、0.1 mcg/ml で余り機能抑制はないが、時間の経過と共に軽度抑制が現われ、1.0 mcg/ml 以上になると抑制が著明となり、10 mcg/ml で一層顕著となると述べている。楠本³²⁾は形態面に就いても 0.01 mcg/ml で既に細胞の空泡変性、低位相差像、崩壊溶解像が著明に、0.1 mcg/ml では核の変化も著明に見られるが、唯、淋巴球に対しては全く影響が見られないという。著者の成績もほぼ同様で 0.01 mcg/ml で殆ど影響なく、0.1 mcg/ml 以上になる

と機能抑制が現われるが、形態面でも同様の変化を認めた。

以上の諸成績から推察すると抗生剤 3 者では TM が一番副作用少く、これに CZP、MC の順である。

次に化学剤に就いては先づ TESPA では西村⁴⁸⁾は家鶏胎児の心、脾に対して 40 mcg/ml で発育抑制が、500 mcg/ml では完全に発育阻止を見ている。太中⁴⁶⁾は人癌 INK 法にて 30 mcg で 55% の有効率を示したといひ、楠本³²⁾は骨髓細胞に対して 0.2 mcg/ml で既に細胞質のみならず核に対しても著明な変化を与えるが、淋巴球に対しては殆ど変化がないと述べている。骨髓の機能面に就いては殆ど報告がない。著者の成績では 1 mcg/ml では対照に比し、むしろ機能亢進を。10 mcg/ml では対照に近い軽度抑制を。100 mcg/ml で全面的に機能低下を認めた。1,000 mcg/ml 以上では当初から機能抑制の為に増加傾向が見られない。形態面では 1~10 mcg/ml で 24 時間頃から細胞質の空泡変性等の所見が現われ、100 mcg/ml で核の変化が著しかった。

NMO に就いては、高木⁴⁵⁾は HeLa 細胞に対して 10 mcg/ml 以上で 2 日目から著明な抑制効果が、1.0 mcg/ml では 4 日目から軽度の抑制傾向が見られ、JTC-4 (RH) 細胞に対しては HeLa 細胞に対してと殆ど同じく 10 mcg/ml で著明な抑制を、1 mcg/ml 以下で殆ど効果を認めぬと述べている。西村⁴⁹⁾は家鶏胎児の心、脾に対しては 4 mcg/ml で発育抑制が現われ 500 mcg/ml で完全なる抑制を見る。楠本³²⁾は骨髓細胞の形態面で 5~10 mcg/ml の濃度では核に対して、10 mcg/ml で細胞質に著明な変性崩壊像を見たという。著者の成績も 1 mcg/ml で機能亢進を、10 mcg/ml では対照に近く、100 mcg/ml 以上で抑制が著明となる。5,000 mcg/ml では当初から相当な障害を及ぼす。形態面に就いても同様 100 mcg から核、細胞質の変化を認める。

MH に就いては西村⁴⁹⁾によると最少有効濃度 46 mcg/ml、発育停止濃度は 2,000 mcg/ml と相当高濃度にならないと影響が現われず、今永⁴⁴⁾は人癌 INK 法で 12.5 mcg/ml で 50% 有効であつたという。又骨髓細胞に対しての報告は他に殆ど見ないが、著者の成績によると 1 mcg/ml で機能亢進、10 mcg/ml より稍抑制、2,000 mcg/ml で完全な抑制傾向を見る。形態面でも 10 mcg/ml で核と細胞質の両者に変化を及ぼすことがわかつた。

RC-4 に就いては北川⁴⁸⁾の家鶏胎児の心に対し 32 mcg/ml で発育抑制を、1,000 mcg/ml で完全停止を見る。一方脾に対しては極めて微量の 0.01 mcg/ml で抑制を。10,000 mcg/ml で完全停止を認める。骨髓細胞に対しては著者の成績では機能面に於いて 1 mcg、10 mcg で機能亢進を、100 mcg/ml で軽度機能亢進か、対照に

第 11 表 MC, TESPА の末梢赤血球数及び Hb 量に及ぼす影響

MC	連日投与群				間歇投与群			
	0.04 mg/kg		0.08 mg/kg		0.12 mg/kg		0.24 mg/kg	
	赤血球数	Hb 量						
投与前	461×10 ⁴	92%	430×10 ⁴	93%	473×10 ⁴	94%	467×10 ⁴	95%
投与後	410×10 ⁴	83%	422×10 ⁴	84%	403×10 ⁴	84%	405×10 ⁴	87%

TESPA	連日投与群				間歇投与群			
	0.1 mg/kg		0.2 mg/kg		0.3 mg/kg		0.6 mg/kg	
	赤血球数	Hb 量						
投与前	470×10 ⁴	92%	448×10 ⁴	93%	464×10 ⁴	94%	444×10 ⁴	89%
投与後	398×10 ⁴	79%	362×10 ⁴	84%	451×10 ⁴	85%	441×10 ⁴	86%

0.24 mg/kg の投与群では夫々 49/51 及び 45/55 と比が逆転しているが、連日群に比し幾分障害度が軽度なることがうかがわれる (第 16 図)。

TESPA : 連日群に於いては 45/55, 31/69 と 1.0 以下の値を示し、顆粒球への障害が非常に著しいことを物語っている。一方間歇群に於いては 53/47, 35/65 と 1 回 0.3 mg/kg の投与群では比較的影響が少ないが、倍量の投与によるとやはり障害度が一層著明であつた (第 17 図)。

以上両薬剤共淋巴细胞への影響は非常に少ない事、亦間歇群は連日群に比し顆粒球への障害ははるかに軽度である事、TESPA は MC に比し影響が大である事がわかつた。

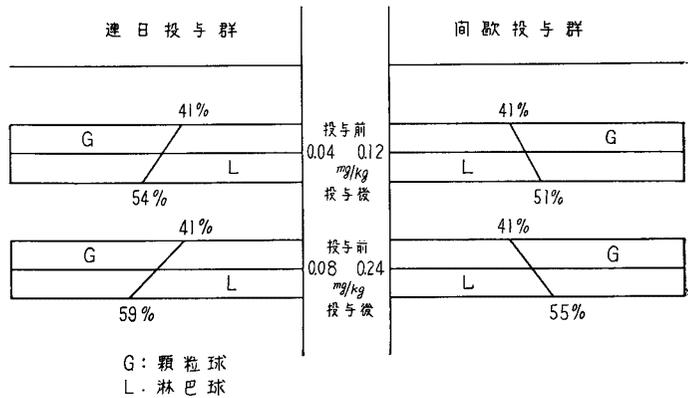
4) 骨髓有核細胞数の変動

MC : 連日群, 0.04 mg/kg 投与群では最高 1.25, 0.08 mg/kg 投与群では最高 1.16 と低値に止まり、更にそれも 12~24 時間をピークとして抑制傾向が見られた。

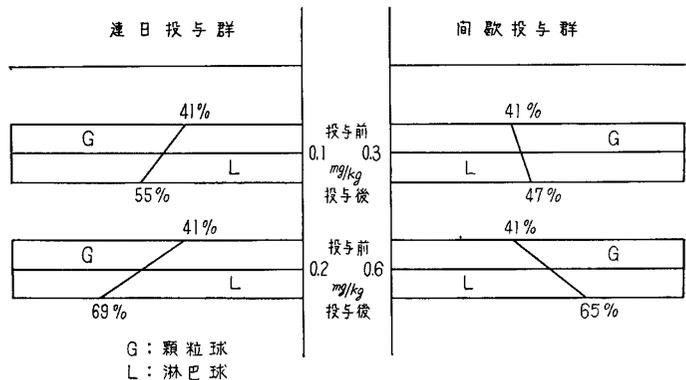
間歇群, 0.12 mg/kg 投与群では培養 3, 6 時間目には 1.17, 1.21 と機能亢進を見、以後やや抑制が見られ、48 時間値は 1.39 と対照に比べてやや低値を示す。倍量の 0.24 mg/kg では培養 6 時間値はやはり軽度機能亢進を示すがその後の増加は余りなく最高 1.23 に止つていた (第 18, 19 図)。

TESPA : 連日群, 非常な機能抑制が認められる。即ち 0.1 mg/kg 投与群では培養 3 時間で対照より稍増加率が上回るが時間の経過と共に抑制傾向が

第 16 図 MC 投与前後の末梢白血球百分比



第 17 図 TESPА 投与前後の末梢白血球百分比



大となり 12 時間で既に 0.99, 72 時間に至ると 0.67 と非常な減少を認める。

これが倍量の 0.2 mg/kg 投与群になると更にその傾向が著しく培養当初より減少し、唯一途に下降カーブを描き 72 時間で 0.47 に至る抑制を認める。

間歇群、連日群程の著しい影響は見られず、0.3 mg/kg の投与群では比較的ゆるやかな増加曲線を示し最高 1.29 の値を認める。更にこの倍量の投与群でも増加の山を描くが、やはり前者より抑制傾向が著しい (第 20, 21 図)。

5) 墨粒貪喰能

MC : 連日群、培養 3 時間目では稍機能亢進を認めるも 6 時間目に至つては既に機能抑制有り。即ち 0.04 mg/kg の投与群で 0.64, 0.08 mg/kg 投与群では 0.47 と対照の 0.88 に比し抑制有り、その後更に抑制が著しくなり、減衰曲線を描く。

間歇群、0.12 mg/kg 投与群では培養 3 時間目で機能亢進を認めるも以後著しい抑制が見られ、倍量の 0.24 mg/kg 投与群では一層抑制が著しいことがわかる (第 22, 23 図)。

TESPA : 連日群、機能抑制が殊に著しく最高値 0.50, 0.34 に止まり、以後平行乃至は下降線を辿る。

間歇群、培養 3 時間で機能亢進を見るも、6 時間で 0.73, 0.59 と抑制有り。更に時間の経過と共に機能抑制の傾向大となっている (第 24, 25 図)。

6) 形態的变化

MC : 連日群、0.04 mg/kg 投与群では培養 12 時間目頃より空泡形成、低位相差、崩壊溶解像が見られる。倍量の 0.08 mg/kg では培養当初より空泡形成像が見られ、核の無構造化も時間の経過と共に見られるに至る。

間歇群、0.12 mg/kg 投与群では 12 時間目頃より空泡形成、崩壊溶解像が出現し、倍量投与では 6 時間目より変性像の出現を見る (第 12 表)。

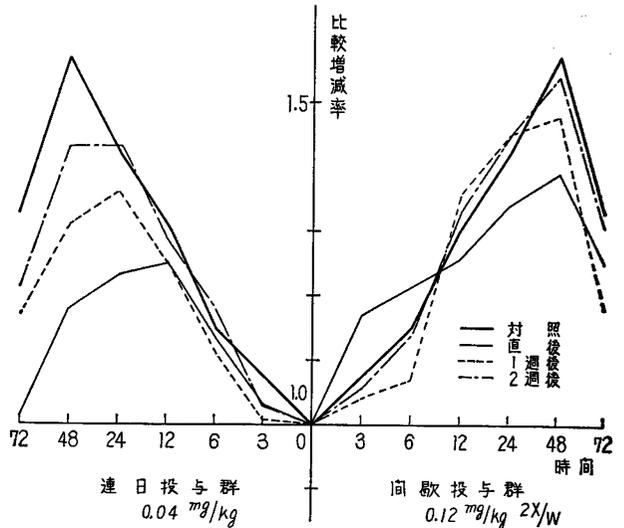
TESPA : 連日群、培養当初では偽足状突起、空泡変性が見られ、時間の経過と共に崩壊溶解が、亦核の無構造化も見られる。0.2 mg/kg 投与群では空泡変性、崩壊溶解が一層多数に出現する。

間歇群、培養 12 時間頃より空泡変性、崩壊溶解、更に低位相差像が見られる。倍量も亦同様の傾向有り、且核の変性出現も見る (第 13 表)。

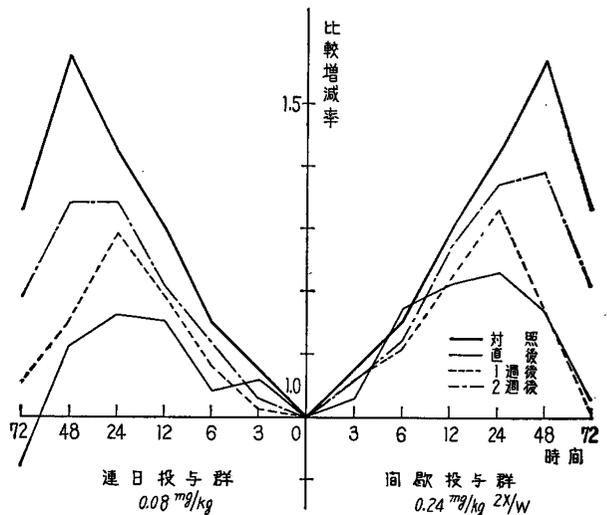
7) 小 括

MC, TESP A の両薬剤を投与方法別、即ち連日投与群と間歇投与群の 2 群に分け比較検討した。臨床上制癌

※18図 MC投与終了直後、1週後、2週後の有核細胞数に及ぼす影響



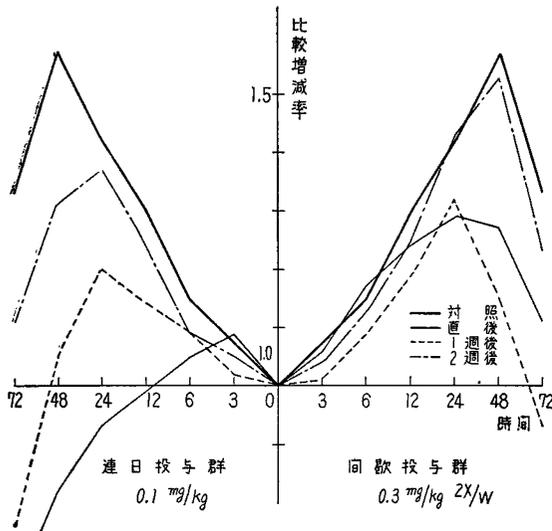
※19図 MC投与終了直後、1週後、2週後の有核細胞数に及ぼす影響



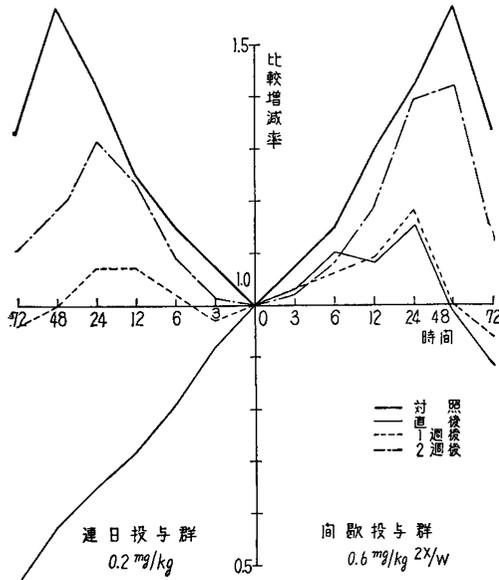
剤投与による末梢白血球数減少、顆粒球への障害の著しいことは既に明らかな事実であるが、殊に連日投与群に於いてその障害が一層著明に認められる。唯赤白血球数 Hb 量には殆ど変化なく、亦投与方法によつても有意の差を認めない。MC と TESP A とを較べて見ると MC の方が白血球減少に及ぼす影響は少くその発現の曲線も緩やかである。

次に骨髓有核細胞数の増減率に就いては連日群の最高値は間歇群のそれに比し約 1/2 近くの抑制を認め、殊に TESP A では抑制が著しく培養当初から減少傾向を示しているのが見られる。それでも間歇群に於いては連日群と異り一時的ではあるが軽度の増加を見る。

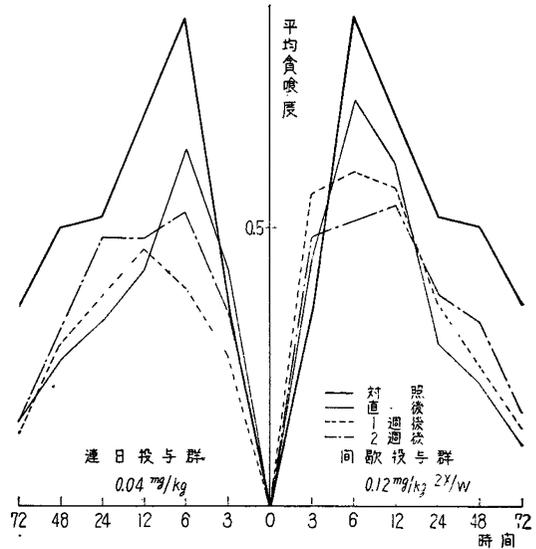
※20図 TESP A投与終了直後、1週後、2週後の有核細胞数に及ぼす影響



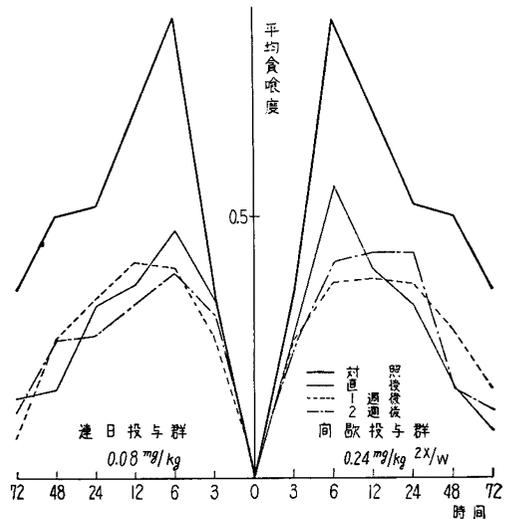
※21図 TESP A投与終了直後、1週後、2週後の有核細胞数に及ぼす影響



※22図 MC投与終了直後、1週後、2週後の墨粒喰食能に及ぼす影響



※23図 MC投与終了直後、1週後、2週後の墨粒喰食能に及ぼす影響



墨粒喰食能もやはりその他の成績と略々平行し連日群は間歇群に比し約1/2の低率を見た。

形態的变化の面でも連日群では培養当初乃至は培養6時間目頃から諸変性像の出現を見るが、間歇群に於いては幾分その出現の遅延を認め、6時間目乃至は12時間目頃から空泡形成、低位相差、崩壊溶解像の出現を見た。

以上両投与方法とも骨髓に何等かの機能抑制を与えている事は事実であるが、更にそれらを対比して見た時、間歇投与群は連日投与群に比しその障害度はかなり軽度であると言える。即ち連日群の約1/2~1/4、或いはそれ

以下の障害を見るに過ぎないことがわかる。

さて次にMCとTESPAの薬剤別の影響に就いてであるが、末梢白血球数、末梢白血球分類に於いては明らかにTESPAの障害度の著しいことがわかる。但し赤血球数、Hb量に就いては余り有意の差を認めない。又骨髓機能面でもTESPAの影響著しく先に述べた如く有核細胞数の増減率が培養当初から減少の一途を辿るものすら見られた。これに反しMCのある群では対照よりむしろ機能亢進が見られた。細胞の変性像もTESPAの方が稍早期に出現するようである。

以上総括的に見るとMC及びTESPAの夫々の連日

表24図 TESPA投与終了直後、1週後、2週後の墨粒喰食能に及ぼす影響

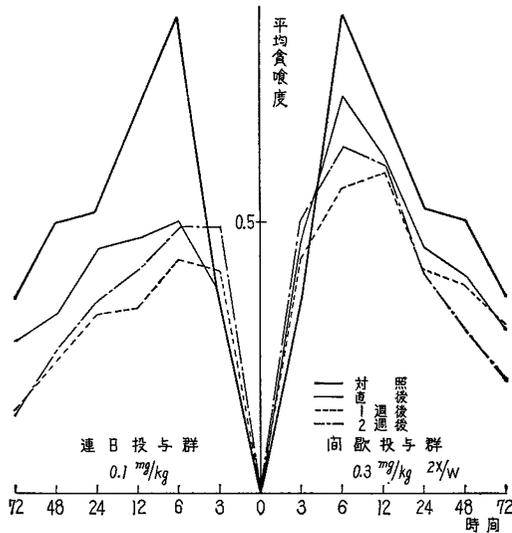
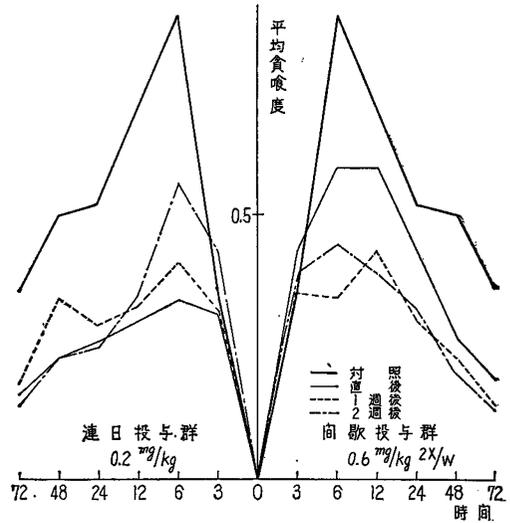


表25図 TESPA投与終了直後、1週後、2週後の墨粒喰食能に及ぼす影響



第12表 Mitomycin の形態学的影響

	時間	顆粒集合	空泡	偽足	萎縮	低位相	崩壊溶解	核構造	核無縮	核萎縮
連日投与 0.04 mg/kg	3									
	6									
	12		+							
	24		+							
	48		+					+	++	
	72		+					+	++	+
連日投与 0.08 mg/kg	3		+							
	6		+							
	12		+					+	++	
	24		+					+	++	
	48		++					++	++	+
	72		++				+	+++	++	+
間歇投与 0.12 mg/kg	3									
	6									
	12		+					+	++	
	24		+					+	++	
	48		++					+	++	
	72		+					++	++	
間歇投与 0.24 mg/kg	3									
	6		+							
	12		++					++	++	
	24		++	++				+	++	
	48		++	++				++	++	
	72		++	++				++	++	

第13表 Trespamin の形態学的影響

	時間	顆粒集合	空泡	偽促	萎縮	低位相	崩壊溶解	核構造	核無縮	核萎縮
連日投与 0.1 mg/kg	3		+	+						
	6		+							
	12		+					+	++	
	24		++					+	++	
	48		++					++	++	
	72		++					++	++	
連日投与 0.2 mg/kg	3		+							
	6		+					+	++	
	12		++					+	++	
	24		++					+	++	
	48		++					++	++	+
	72		++					++	++	+
間歇投与 0.3 mg/kg	3		+							
	6		+							
	12		+					+	++	
	24		+	+				+	++	
	48		+	+				+	++	
	72		++					+	++	+
間歇投与 0.6 mg/kg	3									
	6		+							
	12		+					+	++	
	24		+					+	++	
	48		+	+				++	++	
	72		+					++	++	+

及び間歇投与の中、MC の間歇投与が一番副作用の発現が少ないものと思われる。

第2項 投与終了1週後の影響

制癌剤投与による骨髓に対する障害は前項で検討したが、此等薬剤一定量のある投与方法にてある期間投与した場合、その細胞が受けた影響というものは休薬期間に入つても尚且進行状態に於いて障害を与え続けているものなのか、或はそれらの影響から脱し、正常な状態に近づこうとしているものなのかと言うことは大切な問題である。現に臨床上一応予定投与量を終了し、休薬期に入つたにも拘らず末梢白血球の減少傾向が衰えず進行すると言う事実が多数報告されている⁴⁹⁻⁵¹⁾。

著者は前項に於いて投与直後の末梢血液及び骨髓機能の状態を観察したが、本項に於いては此等の制癌剤投与による障害よりの回復の可逆的許容量を検討する為休薬後1週間目に於ける骨髓の抑制傾向の有無乃至その程度を観察した。

1) 末梢白血球数の変動

MC：連日群、間歇群共に投与直後の値と休薬1週後の値と比較した場合、不変に近い値か軽度増加の傾向を示しているが、減少率が低かつたもの程回復傾向の大なることがわかる。

TESPA：MC と同様の傾向有り投与方法の如何に拘らずほぼ不変か軽度増加を示している。

即ち両薬剤とも連日投与群の方が間歇投与群に比し投与直後白血球減少の程度が大なる事は前項に述べた如くであるが、その回復も連日群ではまだ回復が悪いのに対して間歇群ではより速やかに正常値に近づく傾向が見られる。同様な事は MC と TESPA を較べた場合に言える事で MC の方がより正常値への回復が速やかである

第14表 MC, TESPA 投与による末梢白血球数の変動

MC	連日投与群		間歇投与群	
	0.04 mg/kg	0.08 mg/kg	0.12 mg/kg	0.24 mg/kg
投 与 前	9,800	9,900	9,700	9,600
投 与 7 日 目	5,700	4,900	8,300	7,700
投 与 終 了 直 後	4,500	3,300	7,500	6,200
1 週 後	5,700	3,400	8,900	7,000

TESPA	連日投与群		間歇投与群	
	0.1 mg/kg	0.2 mg/kg	0.3 mg/kg	0.6 mg/kg
投 与 前	9,900	9,600	9,500	9,500
投 与 7 日 目	6,200	5,000	7,000	5,100
投 与 終 了 直 後	4,000	3,300	6,500	4,500
1 週 後	4,800	4,400	5,500	5,700

(第14表)。

2) 骨髓有核細胞数の変動

MC：連日群、前述の如く終了直後では最高増加率が0.04 mg/kg では1.25, 0.08 mg/kg では1.16であるのに対し、休薬1週後では1.36, 1.29の増加を認めているが、対照の1.57には及ばない。

間歇群、投与終了直後では一時的機能亢進状態の見られたのに対し、休薬1週後ではむしろ抑制傾向が大となり対照より低い増加率を示しているが、時間の経過に伴い再び上昇傾向を示すと言う二相性の増加曲線を示している(第18, 19図)。

TESPA：連日群、0.1 mg/kg 投与群では培養24時間まで平低ではあるが増加を見、その後漸減する。0.2 mg/kg 投与群では培養当初一時的に減少するも、その後緩やかな増加を示す。勿論投与終了直後の曲線から見れば非常な機能回復を認める。

間歇群、終了直後の一時的機能亢進よりむしろ抑制傾向に変わり低値を示しながら緩やかな増加曲線を描いている(第20, 21図)。

3) 墨粒貪喰能

MC：連日群、0.04 mg/kg, 0.08 mg/kg 群共に最高0.46, 0.41と対照に比し、ほぼ半分の値に止まっている。

間歇群、終了直後では最高値0.12 mg/kg 群の0.60, 0.24 mg/kg 群の0.38であるのに対し休薬1週後では連日群と同様投与終了後より更に低値で、機能低下抑制傾向を見るが、0.12 mg/kg 群では連日群よりは高値である(第22, 23図)。

TESPA：連日群、0.1 mg/kg 群と0.2 mg/kg 群との間には殆ど差なく両群とも投与終了直後のそれに比し稍回復か、或いは機能抑制が見られる。

間歇群、連日群と同様0.3 mg/kg, 0.6 mg/kg 両群共投与終了直後のそれより強い抑制が見られるが、連日群に比しそれは軽度である(第24, 25図)。

4) 小 括

第1項に於いて抗生剤としてMC、化学剤としてTESPAの両制癌剤を全身的に投与した場合、その所期の目的である予定投与量を何等の障害なく投与し終えたかに就いて検討したが、本項に於いては投与中止後1週間目の末梢血液、並びに骨髓細胞の発育状態及びその機能に就いて観察し、その投与による影響よりの脱却状態を検討した。

即ちMC, TESPA 両者の影響を投与方法別に検討すると次の如くである。末梢白血球数の変動に就いては連日群、間歇群共に有意の差なく、投与終了直後の影響の少ないもの程、即ち一般的に白血球減少の少ないもの程1週

後の回復状態はよく、障害の著しいもの程尚回復の悪い状態にあると言わることがわかる。

次に骨髓有核細胞数の増減に就いては連日投与群に依然として発育の抑制が著しい。但し投与終了直後の如く培養当初から減少するような高度の抑制は見られない。間歇投与群では連日投与群に比し更に回復傾向は著しかった。

1 週後の墨粒貪喰に就いては連日群に於いても、亦間歇群に於いても投与終了直後の発育に比して更に抑制傾向が著しかった。

以上を総括すると骨髓の機能面から薬剤の影響と言うものを考察した場合、確かに末梢血液像に就いては回復の兆を示し、現にかなりの程度まで回復しているが、一方骨髓面に焦点を合せると、有核細胞数の発育は略、それに平行するが、墨粒貪喰能では明らかにその影響が除去されず現在尚進行状態に有ると言う事は注目すべき事実である。この事は回復状態を見る上に大いに参考となることで、今後の投与量、投与方法に就き示唆されるところ亦大であると言えよう。

更に MC, TESPA の両薬剤の薬剤別の差異は第 1 項に述べた如く TESPA に一層影響が著しく、それだけに回復も遅延していると言う事であるが、障害が大であればある程その機能面の正常化までの日数にかなりの時間を要すると言う事は注目すべきである。即ち TESPA の連日投与群では 1 週間の休薬期間に入つても尚、全面的に骨髓機能の改善を見出し得ないと言う事である。一方 MC の間歇投与群ではこの間に十分なる回復期への移行と言うものが認められ、より一歩正常化に近づきつつあると言う事実である。

第 3 項 投与終了 2 週後の影響

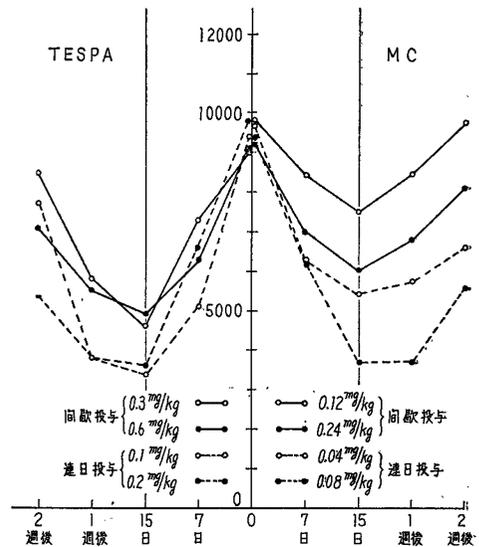
前 2 項で投与終了直後及び休薬 1 週後の状態を観察して来たが、1 週間の休薬期間をおいた事により十分回復への足掛りを察したのもあり、亦改善への一歩を踏み出す事も出来ず、むしろ更に退行過程に入る面すら見出され、これらの点を検討する必要があると思われる。従つて著者は更に 1 週間、即ち休薬後 2 週目の状態を観察した。

1) 末梢白血球数の変動

MC: 連日群, 休薬 1 週後までは末梢白血球数に著明な変動なく、投与終了直後の低値のまま持続するか、稍増加の兆を見るに過ぎない。2 週後に至り漸く回復への足掛りとなり、0.04 mg/kg 投与群では 0.08 mg/kg 投与群より回復は著明であるが、対照に比し両群共まだ低値を示している。

間歇群, 0.12 mg/kg 投与群に於いては殆ど投与前乃至はそれ以上の値にまで回復を見る。倍量の 0.24 mg/

第 26 図 MC, TESPA 投与による末梢白血球数の変動



kg 群でもかなり投与前の値にまで改善されつつある。

TESPA: 連日群, 投与終了直後では MC に比し白血球減少が非常に著しく 3,000~4,000 の値にまで減少を見るが、休薬 2 週後に至り急速に回復を見る。

間歇群, 0.3 mg/kg 投与群では 8,500, 0.6 mg/kg 投与群の 7,100 といずれも正常乃至はそれに近くまで改善回復を認めた。

以上休薬 1 週後まで低迷し続けた白血球減少が、休薬 2 週目に至り漸く正常値まで急速なる改善を認める事は注目すべきであるが、同じ 3,000 台でも投与量の大なるもの程やはり改善率の低い事は注意すべき事実であろう (第 26 図)。

2) 骨髓有核細胞数の変動

MC: 連日群, 順調なる回復状態を見、対照に近い曲線を描くが、尚最高値は 1.43, 1.34 を示し今一步の観がある。

間歇群, 0.12 mg/kg 投与群に於いては対照に比しむしろ発育亢進を認め、細胞数の増加の著しい所見が証明せられるが、最高値は尚 1.54 に止まる。0.24 mg/kg 投与群ではまだ発育抑制が著しく 1.39 の最高値に止まる (第 18, 19 図)。

TESPA: 連日群, 投与終了直後時の著しい抑制状態からかなりの改善を認め、0.1 mg/kg 投与群では 1.37, 0.2 mg/kg 投与では 1.31 の最高増加率を示すに至つた。

間歇群, 殊に 0.3 mg/kg 投与群では MC と同様略対照に近い値を示し、この程度の投与量、投与方法では 2 週間の休薬期間で十分正常値即ち投与前まで回復すると言う事がわかり大いに注目に値する事実である。尚倍量の 0.6 mg/kg 投与群ではまだ軽度の抑制が見られる

(第 20, 21 図)。

3) 墨粒貪喰能

MC: 連日群, 稍機能恢復を見るが, 0.04 mg/kg 投与群では 0.53, 0.08 mg/kg 投与群では 0.39 と最高値は今だに低迷を続けている。

間歇群, 連日群と同様著明な機能恢復は認められないが, 幾分恢復の傾向にあり最高 0.54, 0.43 に止つている (第 22, 23 図)。

TESPA: 連日群, 投与終了時からかなりの改善を見る。殊に 0.2 mg/kg 投与群では最高 0.56 にまでの機能恢復を認める。

間歇群, 0.3 mg/kg 投与群で最高 0.64, 0.6 mg/kg 投与群で最高 0.44 と尚機能抑制が著しいが, 連日群に比しその恢復は更に著明である (第 24, 25 図)。

4) 小 括

末梢血液像並びに骨髓に及ぼす制癌剤の影響は意外に大である事は前項からも既に明らかであるが, 投薬を中止し, 休薬 1 週後に至つても恢復の傾向は見られるも尚その障害は持続し, 骨髓機能が抑制されている事がわかつた。本項に於いては更に 1 週後即ち休薬 2 週後の状態を観察しその恢復状態を検討した。

先ず MC と TESPA の 2 剤を比較するに投与方法の如何に関係せず TESPA では投与直後に末梢白血球数の減少がより著しいが, それだけに休薬後の恢復傾向も著明である。但し TESPA の影響は遷延性で MC では休薬 2 週後には既に良好なる増加傾向が見られるにも拘らず白血球数の恢復不十分で, まだ抑制傾向が残っている。骨髓有核細胞数に就いても同様である。墨粒貪喰能でも TESPA により強い抑制傾向が残っているのがわかつた。

次に此等薬剤の投与方法による差を見るに間歇投与群では連日投与群に比しその恢復状態は, より良好であると言える。即ち末梢白血球数, 骨髓有核細胞数より見て休薬 2 週後では夫々正常に近くもどつているが, 連日投与群では未だ不十分である。即ち末梢白血球数, 骨髓有核細胞数が正常に近づいているのに対し, 墨粒貪喰能は未だ正常にもどるには今暫らく時間を要するものと思われる。

第 4 項 小括並びに考按

第 1 節に於いては制癌剤を骨髓培養液に直接添加して骨髓細胞に及ぼす影響を検討して来たが, 本第 2 節に於いては経静脈的に全身に投与した時, それによつて起つて来る 2 次的な影響並びに骨髓の変化を検討して見た。観察方法としては第 1 節と同じく骨髓細胞を培養し細胞の機能面並びに形態面を薬剤別並びに投与方法別に比較検討した。

まず抗生剤の中, MC に就いては次の通りである。末梢白血球減少は最も屢々見られる副作用の 1 つであるが, 人体に投与した時に起る頻度は芝⁵¹⁾によると 60%, 白羽⁵²⁾ 78%, 和田⁵³⁾ 87%, 島田⁵⁴⁾ 42% と言われている。清水⁵⁵⁾によると大体総量 30 mg で症例の約 30% に減少を認めると言い, 武石⁵⁶⁾によると 1~2 mg 連日投与方法では大部分は総量 20 mg 迄に白血球減少を認めるが 1 回 4~6 mg 週 2 回の間歇投与では総量 40 mg 投与可能であると言う。又一方 8~10 mg 週 2 回の投与方法より 4~6 mg 週 2 回の方法の方がより長期間投与が可能であり, また 1~2 mg の連日投与より一層長期大量投与可能であることを認めている。又, SOKOLOFF⁵⁷⁾もこの点に就いて 1 回 6 mg の週 2 回の投与が最も優れていると述べている。又白羽⁵²⁾も静脈内に投与した平均の投与総量は 39 mg であるとし, 恢復率も 1 週で症例の 30% が, 2 週で 56%, 3 週で 82% までが恢復すると言つている。島田⁵⁸⁾は 4~6 mg 週 2 回で 2 週間投与の場合では減少, 不変, 増加と種々の状態を見出すが 8~10 mg の週 2 回では 50% の減少を, 又 1~2 mg 連日投与では徐々に減少傾向を示す。

一方家兎に投与した場合, 原田⁵⁹⁾によると 500 mcg/kg 連日で約 47% 減少を, 1,000 mcg/kg 週 3 回 2 週で 42.9% 減少を認めている。樋口⁶⁰⁾によると 0.1 mg/kg 連日投与で 10 日目まで約 50% の低下を見る。

著者の成績に於いても連日投与群では 70% 近くが 5,000 以下に減少するが, 間歇投与群では 30% 程度が 6,000 以下になるにすぎない。又恢復率に就いても間歇群では休薬 2 週目で完全に恢復しているが, 連日群では 2 週目でも尚 6,000~7,000 台に止つている。即ち尚發育抑制傾向が認められる。

次に骨髓有核細胞数, 骨髓像に関しては原田⁵⁹⁾によれば連日投与 2 週で骨髓細胞の減少は 100 mcg/kg で軽度, 250 mcg/kg, 500 mcg/kg で中等度, 1,000 mcg/kg で高度であり, 骨髓像に就いても成熟型が 100 mcg/kg で圧倒的に多く見られるが 1,000 mcg/kg で幼若型細胞の割合が比較的著明であると言ひ, 一方休薬 1 週後では幼若型より成熟型の方が明らかに増加しており, 又投与方法を週 3 回の 2 週 1,000 mcg/kg では骨髓細胞の減少が僅かに少いと言う。又神前⁶¹⁾によると Myelopoese を証明し, 又投与終了時余り末梢白血球数に変化を認めないにも拘らず中止後 1~3 週で無顆粒傾向を示す事があり, これは骨髓に対する直接的なる作用と考えられる。又有核細胞数が 10,000 以下では予後の悪い場合のある事を示唆している。

以上末梢白血球数, 骨髓像に関する報告は多数見られるが, これら障害を受けたと考えられる骨髓細胞を組織

培養を用いて観察しているものは極めて少く僅かに平木⁶²⁾、成沢⁶³⁾の報告を見るのみであるが、平木の報告もNMOに就いてのみである。一方成沢の報告では6例のMC投与例に就いて検討している。例えば92mg投与で比較成長価0.6(24時間目)、投与前の18.0に対して非常な抑制であるが、休業により6.0の軽度改善を認めている。食欲能に就いては著変なく、又100mgの投与例で化学療法10日目で多少機能の亢進を認めるが、投与終了時では前の比較成長価8.0が0.5に低下し、その他の使用群でも同様10日後で稍機能亢進を認めるが、投与終了時では著明な機能低下を見ると述べている。

著者の成績によると連日投与群の中、0.04mg/kg投与群で諸機能が平均50%まで減少、発育が抑制され殊に倍量の投与群で25%まで機能低下を認める。一方これらの機能回復は休業2週目に前者は投与前の90%、後者は70%近くまで回復していることがわかる。ところで間歇群の場合0.12mg/kgでは投与前の60~70%まで、倍量の0.24mg/kgで50%の機能抑制を見るが、休業2週目で前者は80~100%、後者は50~70%まで回復している。又概して抑制が軽度なるもの程回復も早いことがわかった。殊に間歇投与方法がより優れたものであることを認める。

次にTESPAに就いては末梢白血球減少は神前⁶⁴⁾によると投与開始1週で投与前の25~55%の減少を見、2~5週では3,000以下となり投与中止の止むなきに至るものが多く全症例の40%に認めている。また休業によつてもその末梢白血球減少が尚進行するものがあり、休業2週で最高に達すると言うMOORE⁶⁵⁾、塚本⁶⁶⁾等の報告もある。又神前⁶⁴⁾はTESPA有効例の投与量平均は200mgを越えるが、無効例は平均80mgで殆ど白血球減少の為に投薬中止の止むなきに至っている。白羽⁶⁷⁾によれば2~3週で40%の減少を見、小山⁶⁸⁾は150mg以上で有効となるが、白血球減少は投与2~4週で減少を見るが、90mgの投与量では3,000以下に減少したものはないと言う。吉永⁶⁹⁾は0.2mg/kgを犬に投与20日間で末梢白血球減少、骨髓細胞の減少傾向を見るが、倍量で一層その傾向が著しいと言う。GERHARTZ⁷⁰⁾によると長期使用により顆粒球減少は50%であると言う。又、PLIESS⁷¹⁾によるとTEM1mg/kg連日投与で3~5日目で50%以上の減少を見、又骨髓細胞の成熟型の障害を見ている。著者の成績に於いても連日投与群、間歇投与群で夫々平均3,000~4,000及び5,000~6,000と減少を見るが、休業1週後も尚回復の傾向なく、2週目に至り初めて回復に向い前者で5,000~7,000、後者で100%近い回復が見られた。

次に形態的な変化の面に就いてはZACH⁷²⁾は家兎に於いて50mgの投与で末梢の顆粒白血球直径の増加するのを見ており、又、ラッテに7.0mg投与でも同様に細胞の右方移動及び直径の増加が見られるが家兎程著明でないと言う。GERHARTZ⁷⁰⁾は人骨髓の組織培養で細胞分裂指数は22時間培養では大体23%であるが、1~10mgのTESPA投与で6~2%に減少しており、又、ラッテにTESPA1回投与によつて末梢顆粒球は6日間減少しているが骨髓の顆粒球系成熟細胞は約3週減少している。一方骨髓芽球、前骨髓球、骨髓球は12日頃に正常化していると述べている。

次に骨髓の機能面に就いての考察は、成沢⁶³⁾の骨髓培養による実験では、培養前かなりの機能低下のあつた人に103mgを20日間投与、投与終了直後に於いては著変なく、休業2月後に比較成長価24時間目40.5、遊走速度25.34μ/mと著明な機能亢進を見ている。又CZPとの併用では25mgのTESPA投与で比較成長価の低下を著明に見たと言う。

著者の成績に於いては、有核細胞数の増減率は連日投与で著明な機能低下が当初から見られるが、休業2週目で意外に回復が早く、60~70%まで機能の改善を見る。間歇群では30~50%まで減少するも休業2週目で80~100%の回復を認める。その他の諸機能も連日群では抑制著しく30~50%まで抑制を見るが、間歇群では60~70%程度の抑制に止つている。両者を比較してもやはり機能の改善は抑制の軽度なもの程回復率も大である。

以上MC、TESPAの両者共投与方法によつて末梢白血球並びに骨髓細胞に与える障害度もかなり異り、著者の成績のみならず諸家の報告に見る如く副作用の点で週2回乃至3回の間歇投与が非常に優れ、投与期間も長く従つて総投与量も大量に与える事が出来、しかも障害度が少い事が分つた。勿論この場合でも1回投与量が非常に多くなれば同様障害が著しくなる事は勿論である。又ただ単に末梢白血球減少が停止していても、尚骨髓細胞の面で機能抑制が持続乃至は進行している事が、大いに注意を要する事をGERHARTZ、MOORE、神前、塚本等も述べている。著者も亦実験的にその事実を再確認した。従つてこれらの骨髓の機能が仮に抑制せられていても、短期間に十分回復可能なる可逆的な状態にあれば、尚再び薬剤の投与も可能となり、また末梢白血球減少もある程度参考にし、十分なる制癌剤を投与すべきであると考えられる。

両薬剤を見た時、既述の如く間歇群が最も優れ、殊にMCに於いては1回0.12mg/kgの週2回投与、TESPAに於いては0.3mg/kg週2回の投与が著者の実験成績でも最も優れた投与方法であると言える。

第4章 総括並びに考按

現在悪性腫瘍に対する治療法は、勿論早期発見を前提とした根治手術が第1義的に、放射線療法、化学療法を第2義的に考えられており、更に最近では第3に内分泌療法、免疫療法も試みられるに至っている。以上いずれを取上げて見ても現代の医学に於いては完全なものがあるとは言いがたく、2者乃至は3者を併用する事により、より完全なものにせんと努力されている。この化学療法に就いても最近10年間に目ざましい長足の進歩を遂げたが、現状としてはまだまだ不充分であるが、やはり化学療法と言うものが癌に対して最終的な治療法即ち手段であると考えられる。

制癌剤は Nitrogen-mustard の発見によりその端緒を開いたが、薬理作用、制癌作用機序、更にはその副作用の各方面から探究を試みられているがいまだに不明解な点が多く、殊にその制癌効果と副作用とは表裏一体のものと言つても過言ではない。従つて制癌効果に期待しつつも副作用の発現の為に十分な目的量も投与出来ない事実を認めざるを得ない。殊に末梢白血球減少は大なる副作用の1つである。従つて著者はこれらの諸点を取り上げ骨髄細胞を *in vitro* にて培養し、これに各種制癌剤を投与し、その影響を受けた骨髄を培養し夫々その骨髄細胞を機能並びに形態面より観察検討を加えた。

組織培養法は ROUX¹⁾(1884) に始り現代では医学の多方面に広く応用研究され、著しい進歩をもたらしたのである。骨髄細胞の培養は CARREL et BURROW²⁾ によつて初めて応用せられて以来、OSGOOD¹⁴⁾(1936) が浮遊液としての培養を確立、その後 NORIS¹⁵⁾、平木²⁰⁾、高橋²⁵⁾等の研究により長足の進歩を遂げた。

著者はここで制癌剤の制癌効果と分離出来ないものと考えられる造血器障害を本態的に究明する為、形態的、機能的に非常に複雑な構成を成している骨髄細胞を体外培養と言う方法を用いてその機能、形態の両面に就いて探究した。殊に制癌剤の有効量乃至は安全量を見出し、且全身投与による副作用もなくす為何等かの示標を求めんと試みたのである。

さて著者は培養経過に及ぼす薬剤の影響を機能面に於いては促進乃至は抑制に分けて考察した。

骨髄細胞が体外組織培養の過程に於いて相当長期に亘つて細胞の成熟分裂が行なわれている事を OSGOOD¹⁴⁾、NORIS et MAJNARICHI¹⁵⁾ は述べているが、丹原²⁸⁾ も骨髄細胞浮遊液を培養し、継時的に観察した時、幼若細胞は次第に低率となるが、桿状核球、多核球が次第に高率となる。即ち幼若細胞の成熟する事を明らかにしている。従つて骨髄有核細胞は培養中も細胞の成熟、核分裂による増殖を営み生体内と類似の骨髄機能を有している

ものと思われる。よつてその増減を算定する事により機能の変化を推定する指標とした。

墨粒貪喰能が骨髄細胞の増生、遊走速度、その他の諸機能と略平行する事は諸家の報告に見られる^{24, 29)}。依つて骨髄細胞の機能を観察するため墨粒貪喰能を採用した。又形態学的な変化を観察する為位相差顕微鏡を用いて生きたままの状態を観察したが、これは組織培養によつて初めて達せられる研究方法である。更に著者は既報の生体染色及び Eosin 染色に及ぼす制癌剤の影響⁷⁴⁾と併せ考察し、位相差による形態学的変化と更に染色性による骨髄細胞の態度とを検討した。即ち位相差顕微鏡により細胞体の顆粒集合に始まり、空泡形成、崩壊溶解乃至は膨化、更には核の萎縮、崩壊、無構造化などの諸点に就いて観察し、機能面の諸変化と併せて制癌剤投与による一層詳しい骨髄細胞の状態を適確に把握せんとした。

以上の各項目に就き、先ず培地に直接制癌剤を添加し、骨髄細胞に直接及ぼす影響を調べ(第3章第1節)、次に制癌剤を全身的に投与し、末梢白血球数、赤血球数、Hb 量を測定し、同時に骨髄細胞を採取し、その発育状態並びに機能を検討し、更に投与終了後1週目、及び2週目に同様の観察を行ない制癌剤投与の影響から脱却状態を観察した(第3章第2節)。尚その際投与量及び投与方法に就き夫々比較検討を加えた。その結果制癌剤の大きな副作用の1つである白血球減少を軽減させる為には、薬剤投与前乃至は投与中に十分骨髄機能の状態を把握出来れば、即ち副作用発現までにそれらを察知してこそ完全なる化学療法が可能と考えられる。

さて薬剤を大きく抗生剤と化学剤の2群に分つと、抗生剤の MC, CZP, TM の3者の中、TM はこれを培養液に直接添加した場合低濃度では全ての機能面に著しい促進作用を示し、又抑制を示す濃度に達するまでにかかなりの量的な開きがある。即ち非常な低濃度では癌細胞に対して Adverse effect があることも想像されるので使用に当つては十分注意が必要かと思う。MC に就いては一部低濃度でその傾向があるが、濃度の増加に従い抑制が著しい。一方 CZP は抑制効果は一般使用量では以上3者の中、中等度に止まつている。

化学剤の4者では TESP A > NMO > MH > RC-4 の順に機能抑制が著しい。しかし有核細胞数の変化でいずれも低濃度で不変乃至は促進を示すが TM 程の機能亢進は認められない。他の諸機能面ではいずれも抑制傾向が著しい。又高濃度になると一層その抑制が著明となる。形態面的変化は NMO は核に、TESP A は細胞質、核共に、MH, RC-4 は細胞質に特に強い変化を与える事がわかつた。楠本²⁹⁾の抗生剤は核に、化学剤は概して細胞

質に働らくと言う報告と概ね同様の傾向を得ている。また幼若型に変化を認めている事実とよく一致している。

制癌剤の悪性腫瘍に対する作用が必ずしも同一でない為、Screening の意義が一層重要視されているように、骨髓細胞に対する作用も又それぞれの特徴をもっており、薬剤の使用に当つては十分な注意が肝要である。又墨粒貪食能の他に生体染色、即ち Neutral-rot 染色、Eosin 染色に就いて見ると⁷⁴⁾、両染色性とも必ずしも平行せず一方で早期染色性を見るも他方ではそれ程でもない事があり、従つて必ずしも貪食能と全く平行するとは言ひ難い事実より更にその機能の複雑性を示していると言えよう。

次に全身的に投与した場合、その投与終了直後の骨髓細胞の態度に就いては第2節に於いて種々検討を加えて来たが、著者の実験では家兎を使用した為量的にも一概に一般人体に使用する体重 Pro kg 当りの量をもつて律し難く、又その成績をもつて論ずるには危険がある事は言うまでもないが、これらより人体に於ける或る程度の使用量、使用方法、障害度等の問題を推測する事が出来るものと考えられる。

著者の成績に於いても、亦諸家の報告をみても、末梢白血球数の変動と骨髓の障害度とは必ずしも平行しない事、末梢白血球減少が停止しても尚骨髓障害の進行している場合の存する事、末梢白血球数が恢復に向つているにも拘らず尚骨髓に恢復の傾向の見出し得ない時のあること等と種々問題があり、それだけにまた逆に骨髓機能の状態を先に察知することにより末梢白血球の動向も探知出来、制癌剤の継続投与の可否も早期に判定が可能になることが考えられる。

次に投与量、投与方法の問題であるが、大量間歇投与と少量連日投与との間に差異があつても先ず1回の投与量に問題があり、次にまた総量にも問題がある。原田⁵⁹⁾は骨髓、肝、脾等の組織学的検査より1回投与量には限界があり、1回投与量が連日投与可能最大量の3倍に達すると述べている。又これらの事実より石橋⁷⁵⁾は臨床例に骨髓移植を行ない、出来るだけ大量の制癌剤を短期間を与えることによつて所期の目的を達せんとしている。以上いずれにしても1回の投与量を最大に、しかも間歇的に投与することにより骨髓障害を一層軽微にし得ることが報告されているが、著者の実験からも亦同様の結論に達した。即ち MC, TESP A 共に間歇週2回の投与方法が連日投与に比しその骨髓への影響も少く、また例え障害をひき起しても恢復への時間かなりの短縮せられることを認めた。しかし一方島田⁷⁶⁾は MC に就いてはその様な投与方法が優れているが、CZP, TM に就いてはむしろ連日投与によつて制癌効果が期待され副作用の発現

も少いと報告している。著者は MC と TESP A の2者に就きこの点を検討したが、薬剤によつては必ずしも間歇投与の方が連日投与より優れているとは言ひ難い場合があるかも知れない。

以上連日、間歇の優劣に就いては種々論議の点があるが、連日投与の場合でも広い意味では間歇投与と言うべきであり、その投与直後以外は血中濃度は低く、たとえ大量であつても瞬時であり、ピークの持続も短いものである。しかるに副作用の発現にかなりの有意の差を生ずるのは簡単に解明出来ぬ因子が介在しているものと考えられ、亦個人差、制癌剤の種類、感受性その他が複雑に作用するものと言えただけに一層その使用に当つては慎重を期さねばならない。また薬剤に就いても著者の成績に於いては一応 MC が TESP A に比し骨髓障害の程度が少いと言う結果になつているがこの点は制癌剤の腫瘍に対する感受性の問題とも関連して今後十分検討の必要があるものと思われる。

第5章 結 論

家兎骨髓の体外培養法を用い、直接制癌剤を培地に添加して継時的にその増殖発育状態を観察すると共に機能及び形態両面より検討を加えた。また制癌剤を予め全身的に投与した後、その影響下にある骨髓細胞の体外培養を行ない、更に休業期のものについても恢復状態を観察した結果、次の結論を得た。

1) 直接培地に添加せる場合、抗生剤に就いては MC>NMO>TM の順に骨髓諸機能、形態面への影響、抑制が著しい。

2) 同様化学剤に就いては、TESPA>NMO>MH>RC-4 の順に抑制が著明である。

3) 抗生剤と化学剤を比較した場合、概して化学剤は抗生剤に比し低濃度でも抑制傾向著しく、高濃度になると一層著明となる。一方抗生剤では一部低濃度で機能亢進すら認められる。

4) 全身的に投与した場合、MC, TESP A 連日投与直後の影響は、末梢白血球、骨髓細胞共に影響著しく、就中 TESP A 投与時の骨髓有核細胞数の比較増減率の低下は著しい。

5) 同じく間歇的全身投与直後の影響は、連日投与時ほどの著明な抑制はないが、それでも TESP A にその傾向が著しい。

6) 休業期即ち恢復期に於ける連日投与群の骨髓細胞、末梢白血球の諸機能の改善にはやや遅延が見られ、2週後に至つても尚抑制がある。

7) 同様恢復期に於ける間歇投与群の諸機能の改善は著しく、休業2週後にほぼ投与前まで恢復するのを認める。殊に MC にその傾向が著しい。

8) MC, TESPА 投与による赤血球, Hb 量に殆ど影響を与えない。

9) 以上総合すると, MC の間歇投与が末梢白血球像のみならず, 骨髓細胞の諸機能面より見ても, 生体に与える副作用が最も少いと考えられ, また薬剤別にも投与方法の点よりも更には機能恢復の点からも最も優れたものであると考えられる。

稿を終るに臨み, 御指導, 御校閲を賜った恩師 河村謙二教授に深甚なる謝意を表す。また絶えざる御援助と御鞭撻を頂いた北川司良助教授, 西村耕治助手に深謝の意を表す。

文 献

- 1) ROUX, V. W.: cit. from OFUJI (20)
- 2) HARRISON, R. G.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. N. Y. 4, 140 (1907)
- 3) CARREL, A. et BURROWS, M. T.: Compt. rend. de la Soc. de Biol. 69, 299 (1910)
- 4) ERDMANN, R.: Proc. Soc. Exper. Biol. Med. 15, 96 (1917)
- 5) CRACIUM, E. B.: Arch. exper. Zellforsch. 2, 294 (1926)
- 6) FISCHER, A.: J. Exp. Med. 34, 447 (1921)
- 7) 木村: 組織培養, 共立出版(1955)
- 8) 勝田: 組織培養法, 納谷書店(1955)
- 9) CARREL, A. et BURROW, M. T.: J. A. M. A. 55, 1379 (1910)
- 10) FOOT, M. D.: J. Exp. Med. 17, 43 (1913)
- 11) GROSSMANN, W.: Beitr. zur Path. Anat. u. zur Allg. Path. 72, 195 (1924)
- 12) BERMANN, G.: Arch. Exp. Zellforsch. 1, 392 (1925)
- 13) WEITZMANN, G.: Virchows Arch. Path. Anat. Physiol. Klin. Med. 299, 458 (1937)
- 14) OSGOOD, E. E. et al.: J. A. M. A. 106, 1888 (1936)
- 15) NORIS, E. R. et al.: Am. J. Physiol. 152, 175 (1948)
- 16) HAYS, E. E.: Am. J. Med. Sci. 216, 528 (1948)
- 17) BERMAN, L. et al.: Blood, 14, 1194 (1959)
- 18) SAWITSKY, A. et al.: Blood, 3, 105 (1948)
- 19) FRIEDERICI, L.: Folia Haemat. 74, 22 (1957)
- 20) 大藤: 最新医学, 10, 2642 (1955)
- 21) 大藤: 最新医学, 11, 433 (1956)
- 22) 菅野: 岡山医誌, 71, 1359 (1959)
- 23) 亘理: 岡山医誌, 71, 5955 (1959)
- 24) 前田: 岡山医誌, 71, 4629 (1959)
- 25) 高橋: 東北医誌, 62, 174 (1960)
- 26) MITSUTANI, S.: Jap. Arch. Intern. Med. 9, 274 (1962)
- 27) 木村: 組織培養, 共立出版, 13 (1955)
- 28) 丹原: 岡山医誌, 71, 5577 (1959)
- 29) 堀田: 組織培養の基本と実際, 永井書店 (1962)
- 30) 谷: 岡山医誌, 71, 727 (1959)
- 31) 杉山: 血液及び組織の新研究と其の方法 (1952)
- 32) 楠本: 大阪市大医誌, 8, 1253 (1959)
- 33) 白羽: Chemotherapy, 10, 25 (1962)
- 34) HATA, T.: J. Antibiotics, Ser. A. 9, 141 (1956)
- 35) 柴田: J. Antibiotics, Ser. B. 13, 329 (1960)
- 36) HATA, T.: J. Antibiotics, Ser. A. 7 (1954)
- 37) 石館: 癌, 46, 469 (1955)
- 38) 石館: 日学士記, 27, 493 (1951)
- 39) 飯島: 医学のあゆみ, 26, 879 (1958)
- 40) 内田: Gann, 48, 205 (1957)
- 41) 秦: J. Antibiotics, Ser. A. 10, 120 (1957)
- 42) 小林: 遺伝学雑誌, 34, 111 (1959)
- 43) 西村: Chemotherapy, 10, 313 (1962)
- 44) 今永: 外科治療, 6, 553 (1962)
- 45) 高木: トヨマイシン文献集, 154 (1961)
- 46) 太中: トヨマイシン文献集, 254 (1961)
- 47) 谷: 岡山医誌, 71, 717 (1959)
- 48) 北川: 京府医大誌, 66, 758 (1961)
- 49) 山形: 最新医学, 19, 2407 (1964)
- 50) 神前: 最新医学, 19, 2419 (1964)
- 51) 芝: 癌の臨床, 5, 399 (1959)
- 52) 白羽: マイトマイシン臨床文献集, 1, 22 (1959)
- 53) 和田: マイトマイシン臨床文献集, 3, 1 (1962)
- 54) 島田: マイトマイシン臨床文献集, 1, 41 (1959)
- 55) 清水: マイトマイシン文献集, 1, 4 (1959)
- 56) 武石: 外科治療, 6, 586 (1962)
- 57) SOKOLOFF, B. et al.: Growth. 23, 109 (1959)
- 58) 島田: Chemotherapy, 10, 1 (1962)
- 59) 原田: Chemotherapy, 9, 173 (1961)
- 60) 樋口: 皮膚と泌尿, 21 (1959)
- 61) 神前: マイトマイシン文献集, 1, 43 (1959)
- 62) 平木: 岡山医誌, 68, 4別巻, 48 (1956)
- 63) 成沢: 東北医誌, 62, 659 (1960)
- 64) 神前: 外科治療, 6, 595 (1962)
- 65) MOORE, G. E.: Cit. from KOSAKI. (1965)
- 66) 塚本: 癌の臨床, 3, 507 (1957)
- 67) 白羽: Chemotherapy, 10, 15 (1962)
- 68) 小山: Chemotherapy, 10, 474 (1962)
- 69) 吉永: 日外会誌, 63, 34 (1962)
- 70) GERHARTZ: Proceedings of the 8th International Congress of Haematology, 1, 654 (1962)
- 71) PLIESS: Verh. Deutsch. Ges. Path. 45, 203 (1961)
- 72) ZACH, J.: Wien. Z. Inn. Med. 44, 51 (1963)
- 73) 角南: 岡山医誌, 71, 4634 (1959)
- 74) 中嶋: 京府医大誌, 未刊
- 75) 石橋: 癌の臨床, 6, 6 (1960)
- 76) 島田: 最新医学, 19, 2319 (1964)