

に減少し、また一方尿中 MMC 排泄量は投与薬剤量の 1/10 以内であることより、MMC は大部分が体内で不活性化される事をわれわれは報告して来た。このような立場より、人間および家兎の各種臓器乳剤と MMC を接触せしめ、その不活性化率を測定した。その結果、MMC は肝、脾、腎皮質において、強い不活性化を受け、特に N_2 下 (anaerobic) での不活化作用が促進される事を明かにした。またこの肝乳剤の不活化の能力は乳剤を 70°C 30 分、100°C 5 分加熱すると消失し、肝細胞の高速遠沈分画では、その不活化能力は Microsome 分画にあった。不活作用の強い臓器では MMC による細胞障害は少ない。

次にこの不活化の系統に影響を与える因子について、検討した結果

1) MMC の副作用を臨床的に軽減するとして報告されている薬剤 (後記) について、MMC との直接接触実験を行なつたが、このほとんどの薬剤は直接 MMC の不活性化作用を有しない事が判明したが、ただビタミン C との混合においてのみ MMC の力価の減少がみられた。

2) 肝乳剤混合物に後記薬剤を添加した実験では、ビタミン B_6 , B_{12} , C, ニコチン酸, ニコチン酸アミド添加において肝および腎乳剤による MMC の不活化は著しく促進された。さらに MMC を 2 重負荷した場合でも、この不活性化の促進が認められた。

3) ビタミン B_{12} , ハイポ, 強力ミノファージン C, グリチルリチン, シスチン, システイン, チオグリコレート, イプシロン, α -チオラ等は MMC と直接接触させても力価の減少は認められず、また肝乳剤と混合した場合でも、その不活活力の促進は認められない。

4) MMC は胃癌組織や胃の正常粘膜の乳剤によつては、ほとんど不活性化されないが、これらの乳剤に、 B_6 やナイアミドを添加しても、MMC の力価には著明な差は認められない。

次に *in vivo* では

1) 家兎に MMC 投与 15 分前にビタミン B_6 , C, ナイアミド等を投与すると、MMC の最高血中濃度が著明に減少する。

2) B_6 を MMC を投与と同時にあるいは 10 分後に投与した場合、最高血中濃度は変わらないが、対照に比し、より速かに MMC が血中より消失する。

3) 臨床的には癌患者において、MMC と B_6 との混注、あるいは MMC 点滴投与終了時 B_6 を投与し、血中濃度を測定すると、家兎の実験成績と同様、血中よりの MMC の消失が促進される傾向を有した。

次に dd 系マウスにおいて、 B_6 , C, ナイアミド投与

後 MMC の大量を静注し、その毒性をこれらの薬剤の作用下で検討すると、その急性毒性は MMC の単独投与の場合 LD_{50} は 8.4, B_6 —10.0, C—12.0, ナイアミド 9.6 mg/kg となる。従つてこれらの薬剤はマウスにおいて、死亡日数を延長し、毒性をやや軽減する傾向を有すると考えられる。

以上の結果は MMC の投与法の改善、副作用の防止に役立つ知見と考えられる。

(159) 吉田肉腫細胞に対する制癌剤 Mitomycin C の影響に関する研究

中島 佐一・寺脇朝治・増井義弘

島田健太郎・深井泰俊

奈良医科大学中島外科

われわれは先に腫瘍細胞に作用する薬剤と宿主抵抗に作用するかも知れない vitamine との併用効果を吉田肉腫を用いて検討し、vitamine B_6 と mitomycin C (MMC) を併用した場合、MMC の効果が著明に抑制される事を報告した。

一方、vit. B_6 を欠いた食餌で飼育した吉田肉腫ラットに MMC を投与した場合、MMC の効果が著明に増強される事を知つた。この現象は vit. B_6 が MMC の不活性化に作用するためか、あるいは MMC によつて形成された cross-links DNA の細胞内における除去に vit. B_6 が何かの役割を演ずるためと考えられる。最近、MMC によつて形成される cross-links DNA は MMC に低い感受性を示す菌によつて除去される事が見出された。

これらの事実は、MMC 耐性、cross-links DNA の除去、ならびに vit. B_6 の間の関連性を暗示する。そこでわれわれは MMC 耐性の吉田肉腫細胞を得その耐性機構に関する、1, 2 の実験を行なつた。呑竜ラットに吉田肉腫細胞を腹腔内に移植し移植後 72 時間目から MMC を 2 mcg/100 g を大腿皮下、または腹腔内に 5 日間投与し、そのラット腹腔内に貯留せる細胞を次のラットに移植し MMC 量を最初の 2 倍量 5 日間投与した。このように、MMC を 1 継代移植毎に 2 倍量に増量して 128 mcg/100 g 耐性の株を得た。この MMC 耐性株を MMC 投与なしに 10 代継代移植したが MMC に対する耐性の低下は認められなかつた。

次にこの耐性株の X 線に対する感受性をみるに、感受性株では、移植後 X 線 250 mcg 500 mcg 1 回照射によつて明らかな延命効果が認められ、また、移植前に *in vitro* で照射しても同様の延命効果が認められた。一方、MMC 耐性株に同量の X 線を照射した場合には何らの延命効果もみられなかつた。

このように MMC 耐性株が cell wall にほとんど影響されない X 線にも耐性であるという事実は、MMC 耐性機構が細胞内の変化に由来するものと考えられる。

そこで、細胞内耐性機構をうかがい知る手始めとして細胞内 SH 基の定量を行なった。

吉田肉腫細胞を蒸留水に浮遊し凍結融解によつて細胞を破壊した後、アンペロメーターを用いて SH を測定した。耐性株では、感受性株に比して $\frac{\text{soluble SH}}{\text{soluble SS}}$ の低下、ならびに protein SH, protein SS の低下がみられた。

このような、耐性株細胞内における SH 基の変化が 1 次的に耐性機構と結びつくものであるか、あるいは 2 次的な変化であるかは、なお今後検討したい。

〔質問〕 木村禎代二 (国立がんセンター内科)

マイトマイシン C (MMC) 耐性細胞と感性細胞間には細胞内 SH 量に相違が認められるとの御報告であるが、我々は MMC 耐性吉田肉腫細胞より抽出せる DNA を用いての耐性獲得実験、電頭による耐性細胞に於ける小胞体の発育不全より、核、細胞質内の物質が、夫々の立場で耐性と云う事実に関与していると考えている。又 MMC 耐性及び感性吉田肉腫細胞を 4 分画し、夫々の分画内の MMC 量を測定した結果は、その分画内の MMC の取込分布には耐性、感性細胞間で殆んど差を認めていない。この事より細胞膜の耐性獲得或は耐性機序への関与に関しては検討を要すると考えている。

〔回答〕 寺脇朝治 (奈良医大第一外科)

我々は SH の変化が MMC 耐性の本態であると考えているのではなく、むしろ、細胞内の DNA は sensitive, resistance な株の間で相異はなく、むしろ MMC によつて引起された cross linking DNA の処理能力が耐性機構の本態であろうと考えている。

第 15 群) 制癌剤の基礎的研究 (その 2)

(160) HeLa 細胞に対するマイトマイシン C の増殖抑制作用 続報

陣内伝之助・東 弘・谷口健三
弾生 恵司

大阪大学第二外科

神前五郎・青木行俊・土井 修
高井新一郎・日下部 博

大阪府立成人病センター

昨年の本学会において、われわれは、HeLa 細胞がその life cycle 上 G 期後半から S 期前半にかけて、マイトマイシン C (以下、MMC とす) に対し、高い感受性

をもつことを報告した。

今回は、映画的手法を用いて、HeLa 細胞を連続的に観察し、個々の細胞について、life cycle 上のどの時期に MMC を作用させた場合、いかなる影響が現われるかを検討した。

実験方法は、TD 15 フラスコに、8~10 万個の HeLa 細胞を培養し、24 時間後から倒立位相差顕微鏡を用いて、3 分間隔で映画の撮影を開始する。その後、適当な時期に MMC を 1 μg/ml 1 時間作用させた後、再び MMC を含まない培地にかえ、さらに長時間にわたつて撮影を続ける。このようにして得られたフィルムを解析して、個々の細胞について細胞分裂後 MMC 処理までの時間と、その細胞がたどる運命を追跡する。このようにして追跡し得た細胞の経過を集積した成績から、MMC による HeLa 細胞への影響には、1) MMC 処理にもかかわらず、ほぼ予定の時期に分裂するもの、2) 死滅、3) 分裂も死滅もしないもの、の 3 種類が認められた。このうち 1) の形式は、細胞分裂後比較的長時間経過した時に MMC 処理を受けた細胞に多くみられる。またこの型の細胞は次の世代で、やはり同じような上記 3 種類の経過をたどりうるものと考えられる。このような MMC のおよぼす影響の形式と、HeLa 細胞の life cycle 上での MMC 処理時期との関係を見るために、細胞分裂後世代時間のほぼ半分と考えられる 15 時間以内に MMC 処理を受けた群と、それより後に処理を受けた群にわけて検討したところ、前者においては細胞死滅の頻度が後者に比してはるかに高く、しかも後者における細胞死滅はほとんど 48 時間以後に起る。一方細胞分裂の頻度は、前者に比して後者が高く、特に最初の 12 時間に 50% の細胞が分裂する。しかし、後者の細胞も 12 時間以降は、分裂の頻度は低下する。これらのことから、後者の細胞では MMC 処理後一見正常に第 1 回の分裂を行なったものも、次の世代において程度の差こそあれ MMC の影響があらわれてくるものと解釈できる。

細胞の形態学的変化をみると、一般に処理を受けた細胞は徐々に細胞質の膨化伸展をみる。ただし 1) の場合はこのような変化が著明となる前に細胞分裂が起る。2) の場合は細胞質の膨化伸展をみたあと、一旦凝縮球形化し、細胞破壊に移行する。これらの細胞の DNA 合成能について検討するために、映画撮影に平行して ³H-チシジンによる labeling を行なうと、分裂後 3~11 時間で MMC 処理を受けた細胞において、MMC 処理後 6~8 時間で DNA 合成能の存在し得ることを、autoradiography によつて明らかにしたが、この問題に関しては、今後なお検討をつづけたいと考えている。

(161) Mitomycin C 作用下に於ける
Lysosome 由来の水解酵素の態度
に就いて 第 2 報

下山正徳・仁井谷久暢・鈴木 明
岩花嘉津子・木村禧代二

国立がんセンター

近年 DE DUVE らは細胞の融解壊死の過程に重要な役割を演ずるものとして、癌化学療法への Lysosome 利用の可能性について論じている。このような立場からわれわれは先に、Mitomycin C 処置後吉田肉腫細胞の DNase, Ac-Pase の total activity を測定し、これが対照に比し上昇する事を報告した。今回はさらに吉田肉腫細胞の DNase, Ac-Pase が Lysosome 由来の酵素である事、および Mitomycin C 処置後これら酵素の free および total activity を経時的に測定し検討した。すなわち吉田肉腫移植後 5 日目の腹水中吉田肉腫細胞を 1% EDTA-Na₂ 加生食で採取し、生食で洗った後、medium (0.001 M EDTA-Na₂ 加 0.25 M sucrose) に懸濁し、eflon の homogenizer で homogenize し、6,000 G-min で Nuclear Fraction, 33,000 G-min で light mitochondrial Fraction 250,000 G-min で heavy mitochondrial Fraction および supernatant Fraction の 4 Fraction に分画、各 Fraction について free activity を測定するとともに、Triton X-100 を 0.1% の濃度に添加し total activity を同時に測定、各 Fraction の relative specific activity を算出した。その結果 DNase, Ac-Pase の total activity および bound activity はともに light mitochondrial Fraction に高く局在する。従つて 1) DNase, Ac-Pase は酸性水解酵素であり、2) その bound activity は light mitochondrial Fraction に局在、3) Triton X-100 により活性化される結果を得た。この成績よりわれわれが測定した DNase, Ac Pase は吉田肉腫細胞においても Lysosome 由来の酵素と考えられる。さらに Mitomycin C 作用下における吉田肉腫細胞の DNase, Ac-Pase の態度について、経時的に検討した。すなわち吉田肉腫移植後 5 日目の呑竜ラットに Mitomycin C 5 mg/kg 皮下注射し、1 時間、3 時間、15 時間後に腹水細胞を既述のごとく採取し、medium に懸濁し、Chaikoff 型 homogenizer で 1 回 homogenize した後 6,000 G-min 遠心後上清部分を crude enzyme とし、その一部で free activity を、一部を virtis で 5 分さらに homogenize 後 total activity を測定した。Mitomycin C 処置後 Ac-Pase Activity の経時的变化は、total activity では 1 時間目

に上昇し、以後上昇を持続する。Free activity は 1 時間後に一過性上昇を示し、その後前値へ復帰する。DNase activity の変化も同様である。すなわち total activity は mitomycin C 処置後 1 時間以後活性上昇を持続するが、free activity は 1 時間後に一過性の上昇後再び前値へ復帰する。以上より細胞内の酸性水解酵素の free activity の上昇は、細胞の融解壊死過程に関連した重要な現象と思われる。しかし mitomycin C による Lysosome への直接作用か、あるいは何らかの機転による間接作用かは判断出来ない。Free activity の一過性の上昇は mitomycin C 処置が 1 回のみであり、処置後早期に融解壊死を起す細胞の酵素活性が測定出来るためと思われ、その後生き残った細胞については、free activity の上昇はみられない事が考えられる。Total activity が持続的に上昇しかつ bound activity が増加している事は、これらの activity を free activity に変える処置を講ずれば、さらにより有効にこれら細胞を融解壊死に導き得る可能性を示す現象として、今後さらにこの方面に関する実験を継続したい。

(162) Endoxan 血中濃度の生物学的判定法について 第 1 報

Endoxan 投与時血清の細胞増殖抑制効果

神前五郎・青木行俊・田中 元
日下部 博・土井 修・高井新一郎
高木英幸

大阪府立成人病センター外科

われわれは先に He La 細胞に対する増殖抑制効果を用いて、血中 MMC 濃度を測定し得ることを発表した。これによる測定結果は、*E. coli* B に対する抗菌力による宮村氏の方法で得られる値とよく一致することを知った。

一方 Endoxan は *in vitro* では活性を示さず、その血中濃度の測定も困難で、あまり詳細に究明されていないが、われわれは Endoxan 投与後血清は He La 細胞に対して十分高度の増殖抑制効果を示すことを知り、それを用いて微量の血中 Endoxan 活性を測定し得る方法を考案した。

この方法による測定値を Endoxan の活性部分と考えられる Nitrogen mustard に換算して表すと、成犬に 70 mg/kg 静脈注射すると、直後には活性は低い約 30 分後までに 50 mcg/ml 程度まで上昇し、この程度の値が 3 時間目まで持続して、以後徐々に下降し、24 時間でほとんど認められなくなる。

このように活性 Endoxan の血中濃度の推移は MMC

や、他のアルキル化剤と非常に異なる特有のものであることを明らかにしたが、これらの値は同時に測定した EPSTEIN 氏比色測定法の森田氏変法 (塩野義研究所) による Mustard 様物の濃度とよく一致し、Endoxan の活性が Mustard 様物質によるものであることを強く示唆する結果を得た。

また一方、われわれの考案した測定法では EPSTEIN 氏法に比して、はるかに微量まで測定し得るが、この方法による臨床例の測定でも、犬におけると同様の血中濃度曲線が得られ、高濃度に達するには 10~30 分を要し、その濃度は 2~3 時間程度持続し、Endoxan 500 mg 静注の場合、血清中の最高濃度は Nitrogen mustard に換算して 2 mcg/ml 程度であることが明らかとなつた。

【質問】 佐藤陽一 (九大婦人科)

(1) HeLa 細胞の培地に血清は何 % 加えたか。

(2) 培養何日目に Endoxan を含む血清を添加したか。

【回答】 青木行俊 (大阪府立成人病センター外科)

1) Control として何を選んでいるか。

回答: 投与前犬血清を用いている。

2) 血清濃度, 培地等は, 又, 牛血清は用いないか。

詳細な培養方法は, 癌学会で報告したが, 吾々は種々の株細胞を screening して HeLa と細胞を選んだ。従つて, 特に特殊な培養方法は用いていない。血清は実験用 Sample 血清 20%, 牛血清 5% で培養 2 日で Cell が充分着床してから, Sample を加え, その後 6 日間培養して, 計数している。

(163) 6-Mercaptopurine の白血病白血球核酸代謝におよぼす影響

中村 徹・足立昭子・藤堂彰男
田辺靖雄・沢田博義・脇坂行一
京都大学協坂内科

6-Mercaptopurine (6 MP) は白血病化学療法における最も有用な薬剤の 1 つであるが無効例の存在や耐性出現などのため必ずしも完全な効果を期待し得ない現況にある。われわれは 6 MP の使用法をより効果的ならしめるため 6 MP の人白血病白血球核酸代謝におよぼす影響につき検討しているが, 今回は ^{14}C -標識 Purine 体の白血病細胞核酸への転入におよぼす 6 MP の阻害効果について若干の知見を得た。

白血病患者の末梢血より SKOOG and BECK の方法に準じて白血球を螺集しその細胞浮遊液に標識核酸前駆物質および 6 MP を添加して 37°C に 3 時間 incubate し

た後細胞より HECHT and POTTER の方法により核酸を抽出し, 比放射活性を測定した。

6 MP は 200 $\mu\text{g}/\text{ml}$ の濃度において Adenine (Ad)- ^{14}C の白血病白血球核酸への転入を阻害しないが Hypoxanthine (HX)- ^{14}C および Guanine (G)- ^{14}C のそれには 30~40% の阻害を示した。さらに RNA, DNA 両分画を BENDICH の方法により塩基に分離しても 6 MP は Ad- ^{14}C の RNA- および DNA-Ad および -G への転入にはともに阻害を示さない。しかし Ad- ^{14}C の RNA- および DNA-G への転入経路の途中から転入すると考えられる G- ^{14}C および HX- ^{14}C の RNA- および DNA-G への転入には阻害がみられた。従つて Hx- ^{14}C と G- ^{14}C との転入阻害はこれらの塩基から Purine 生合成経路とにおける相当する Nucleotides への転入点, すなわちそれぞれ HX. より IMP. および G. より GMP. への変換点での阻害によるものと考えられる。一方 Aminopterin (3.0 $\mu\text{g}/\text{ml}$) は Ad- ^{14}C および Formate- ^{14}C の DNA への転入を阻害するが Thymidine- ^3H の DNA への転入は阻害しない。すなわち Aminopterin で Thymidine nucleotides の合成が阻害される, いいかえると, 4 つの Nucleotides のうちの 1 つの合成が阻害されると DNA 合成全体が阻害されると考えられるが, 6 MP (200 $\mu\text{g}/\text{mg}$) は Ad- ^{14}C , Formate- ^{14}C および Thymidine- ^3H の DNA への転入を阻害せず, われわれの実験条件では 6 MP は Purine nucleotides 生合成には阻害効果を示さないことが推定され, これは上述の所見とも符号している。

6 MP の HX- ^{14}C 転入阻害形式は LINEWAEVER-BURK に Plot すると Competitive Inhibition と考えられ, Km および KI を仮に算出すると, それぞれ 4.5×10^{-5} M および 3.8×10^{-4} となる。G- ^{14}C 転入阻害形式もまた Competitive Inhibition と考えられその Km および KI の値は HX- ^{14}C の場合のそれと比較的よく一致した。このような HX- ^{14}C と G- ^{14}C との転入態度の類似性は BROCKMAN らが細菌においておさめた Inosynic Pyrophosphorylase と Guanylic Pyrophosphorylase との類似性に相通するものと考えられるが, この 2 つの酵素活性は 6 MP をその有効型である Ribotide に変換する反応ともよく平行することが示されているので臨床例について HX/Ad 転入比を測定したところ 6 MP 有効例に比して無効例ではこの比率が低値を示した。このような 6 MP 無効症例では 6 MP の Ribotide 形成不足が 6 MP 無効の 1 因となりうるものが推定される。

(164) D-Glucosamine の制癌作用及び その作用機序

和田義夫・山本直明

国立名古屋病院内科

目的：D-Glucosamine（以下、Gと略記）が制癌作用を有することについては1960年日本癌学会に発表して以来その他の機会にもたびたび発表してきた。今回は本剤の投与方法、作用機序、他の制癌剤との併用効果等につき実験的研究を行なった結果を一括報告する。

方法：呑竜系ラットおよび dd 系マウスに吉田肉腫および肉腫 180 を移植したものにつき各種のGによる治療実験を行ないまたその作用機序解明のためには吉田肉腫腹水細胞、HeLa 細胞に対するGの直接細胞効果を検し、また翁氏法によりGが家兎細網内皮系機能におよぼす影響につき検討した。

結果：

1) 吉田肉腫呑竜ラットに 100 mg/kg のGを一定期間皮下注射した場合の延命効果を中央値と比較すると、移植前5日間投与群、移植後24時間より5日間投与群、移植日を中心とした前後10日間投与群では3群中最後に延命効果が最大である。

2) 吉田肉腫皮下結節型に対するGの効果を前と同様の方法で実験してみると、移植前後投与群に腫瘍の消失を認めたものがあり、またG投与群は全体に対照群に比し多少の延命効果が認められた。

3) Gの5%溶液で吉田肉腫細胞を前処置しこれをラットに移植すると、ラットは他の対照動物とほとんど同時に死亡する。しかし死亡後の腹腔剖検所見は対照動物に比しやや軽度であった。

4) Gを 300 mcg/cc の濃度に HeLa S₃ 細胞培養液に添加しても細胞増殖抑制効果は全くみられない。

5) 翁氏法を用いて家兎で実験するとGはその細網内皮系機能を亢進せしめることが知られた。

6) Mitomycin-C および Toyomycin のラット吉田肉腫および dd 系マウス肉腫 180 に対する増殖抑制効果はGの併用により増強せられることが証明された。

断案：

1) D-Glucosamine は吉田肉腫に対し増殖抑制作用を有する。

2) その投与法は移植前5日間投与、移植後24時間より5日間投与、移植日を中心とした10日間投与の3方法で比較すると移植前後を通じて投与した群に最大の効果がみられた。

3) その作用機序は、直接の細胞傷害効果も軽度には

認められるが主役を演ずるのは細網内皮系機能の亢進その他に因る宿主の一般抵抗力の増強であろうと推測される。

4) Mitomycin-C, Toyomycin の吉田肉腫および肉腫 180 に対する増殖抑制作用は D-Glucosamine の併用によりともに増強せられる。

(165) Phage induction による化学療法剤の態度について (II)

T系 phage に対する化学療法剤の影響

松前昭広・秦 藤樹

北里研究所

LWOFF らはある種の発癌剤の共通因子として溶原 phage の誘発現象を指摘した。われわれは化学療法剤の中で DNA 合成を阻害するような作用機序を示す物質は λ -phage を誘発する事を報告した。また phage 誘発を起さぬように見える物質中には λ -phage を不活化する物質があり、この不活化のために phage 誘発が起らなかったように見える現象を報告した。今回 T系 phage を用いてこれらの物質の phage 不活化作用を調べたので報告する。

10^8 /ml の T₂ phage 液を peptone 水で 10^{-7} に希釈してその 0.05~0.1 ml を *E. coli* B 菌液（菌液と略）（ 10^7 /ml）5 ml に加えて培養し溶菌による濁度の低下を 660 m μ の波長で経時的に調べたところ、75分後から溶菌が始まった。すなわ 5×10^7 ちコの菌液に 5~10 コの phage を加えると菌に感染して菌体内増殖、溶菌による phage 放出、再感染を繰返して遂に総ての菌が phage に感染し溶菌するのに必要な時間が 75 分となった。そこで薬剤を加えて 100 分以上溶菌しない場合その薬剤は phage を不活化するとした。また一定量の phage に薬剤を作用させ 30 分毎に試料 0.1 ml をとり軟寒天重層法によつて phage 数を調べた。両法により Actinomycin S (ACM), Iyomycin B₁ (Iyo), Chartreusin (Chart.), Nitromin, Griseolutein B, Sulfisoxazol, Chlortetracycline 等の T₂ phage の不活化作用を認めた。比濁法で同様な実験を T系他の phage で試みたところ、いずれも T₂-phage の成績とほぼ同様な結果を得た。次に phage 不活化作用を数種の物質について 1 段増殖法によつて調べたところ、Iyo (20 mcg), Chart (20 mcg), ACM (200 mcg) および 6 MP (1,000 mcg) は対照に比して程度の差はあるが不活化がみられたが 6 MP (1,000 mcg), Mitomycin C (MC) (5 mcg) ではほぼ中等に位置した。そこでいかなる作用によつて薬剤が phage の増殖を妨げるかを知る目的で薬剤と菌、あるいは

は薬剤と phage を作用させ 30 分後に phage あるいは菌を加えるかあるいは 3 者を同時に加えて溶菌の有無を調べた。その結果 Iyo, Chart は菌の発育を阻害しない量で phage 自体に作用する。この 2 剤は λ -phage も完全に不活化する事を前報で述べた。両物質の phage 不活化に差異が認められるのは既述のごとく遊離 phage が菌体に感染するまでの短い時間に Chart は phage に作用して不活化するが Iyo は phage を不活化しきれないためと考えられる。ACM は菌の発育を弱いながら阻害する量で菌と phage の両者に作用する。すなわち phage 自体および菌体内 phage の増殖をおさえる成績をえた。Streptomycin は菌の発育をおさえぬ量で菌体内の phage 増殖をおさえると思われる。しかし phage 自体には作用しない。MC と Chloramphenicol は菌の発育を阻害するが phage 自体には作用しない。しかし興味あることには 3 者同時に加えた場合完全に溶菌するにも拘らず、菌を先行した場合、phage を先行した場合には完全溶菌しない事である。これは主として菌の増殖を阻止し、また phage にも何らかの影響をおよぼして溶菌が妨げられているためであろう。6-MP は既述のごとく phage には作用しないが、菌の増殖を阻止した。しかして菌が介在すると菌体内 phage の放出を遅らせた。

第 16 群) 制癌剤の投与方法 (その 1)

(166) HeLa 細胞に及ぼす各種制癌剤の影響

——とくに分割投与方法について——

井 越 進・佐藤陽一
九州大学産婦人科学教室

悪性腫瘍の治療における現在の化学療法剤の効果は必ずしも期待できず、現段階において臨床的には副作用とともに投与方法の検討がもつとも重要なものと思われる。われわれはすでに HeLa 細胞を使用し、Nitromin, Mitomycin C については各々の総投与量が同じであれば、長期間投与より短期間投与がより著明な増殖抑制効果のあることについてのべたが、さらに Nitromin, Mitomycin C および Toyomycin の分割投与方法についても比較検討した。すなわち HeLa 細胞は静置培養法、HANKS's BSS 80%, 5% Lactalbumin Hydrolysate 10% に牛血清 10% を加えた培地を使用し、trypsin 処理によつて inoculum size を 7×10^4 cells とし、細胞の核は crystal violet で染色して算定した。制癌剤は HANKS's BSS で所定の濃度に希釈し、培地の 1% になるように添加し、対象群には HANKS's BSS のみを加

えた。培養 2 日目に旧培地をすて、制癌剤を含む新しい培地 1.5 ml と交換し、その後は隔日に培地を交換して次のごとき成績をえた。

Nitromin の total dosage が 9.5 mcg の場合、1.5 mcg/ml \times 2 日の 2 回分割投与と 3.1 mcg/ml \times 1 日の 2 回の分割投与の増殖抑制効果は 0.8 mcg/ml \times 8 日の投与群よりもわずかに抑制効果は優れているが、6.3 mcg/ml \times 1 日の 1 回投与群よりも明らかに抑制効果は劣っているのが認められた。さらに total dosage が 18.7 mcg では、3.1 mcg/ml \times 2 日の 2 回分割投与と 6.3 mcg/ml \times 2 日の 2 回投与は 1.5 mcg/ml \times 8 日の連続投与よりも強く抑制効果を認めるが、6.3 mcg/ml \times 2 日および 12.5 mcg/ml \times 1 日の 1 回投与よりも明らかに抑制効果が劣るのが認められる。すなわち分割投与群において、2 日ずつの分割よりも 1 日ずつの分割投与の方が優れた抑制効果があつた。

Mitomycin C の total dosage を 0.75 mcg と 1.5 mcg とした場合、1 日ずつの 2 回分割と 2 日ずつの 2 回分割投与群はともに 1~2 日間の 1 回投与群と大差は認めないが、8 日間投与群よりは明らかに強い抑制効果を認めた。

Toyomycin の total dosage が 0.06 mcg のとき、0.02 mcg/ml \times 1 日の 2 回分割投与群は 0.01 mcg/ml \times 2 日の 2 回分割投与群よりも著明な増殖抑制効果を認めた。さらにこの両者は 0.05 mcg/ml \times 8 日の投与群よりも著明な抑制効果があり、また 1~2 日間の 1 回投与群よりは抑制効果が劣るのが認められた。

なお、形態変化は、増殖抑制曲線に一致して膨大・巨細胞および矮小型細胞も出現した。

以上を要約すると、HeLa 細胞を用いて Nitromin, Mitomycin C および Toyomycin について分割投与方法を検討した結果、分割投与は少量連続投与よりも抑制効果は優れているが、大量短期間投与よりも抑制効果が劣り、同じ分割投与でも 1 回の投与期間が短いものに増殖抑制がまさっていることを認めた。これらの *in vitro* の成績を直ちに *in vivo* に還元することは早計かつ危険であるが、臨床その副作用の点からも一応考慮されるべき投与方法と思われる。

〔質問〕 藤本 茂 (千葉大学綿貫外科)

1. 制癌剤を入れた際の Medium pH の問題であるが、pH が変つた事はないか。

2. 分割投与の際は Medium を更新して行つたか。特に初回大量投与の際は、経時的の制癌剤の不活性化と pH の変動がある様である。

3. 3 剤中特に Chromomycin A₃ の高濃度の際は pH の変動由来の腫瘍細胞の形態学的変化があるので、

検討には注意を必要とする。

〔回答〕 佐藤陽一（九大婦人科）

1. 培地の pH の変化は phenol red を培地に入れて
いるが、特に変化はみとめられなかつた。

2. 分割投与ならびに少量連続投与に際しては、その
都度制癌剤を溶解した。

3. 先にものべた様に phenol red により pH の変化
をみているが、変化はあまりみとめられない。

(167) 組織培養よりみた制癌剤投与方法の 検討

第 2 報 制癌剤低濃度投与の基礎的検討

(誌 上 発 表)

渡 辺 顛・原沢寿三男・木暮順一
藤 本 茂・山 崎 武・三枝一雄
小 倉 孝道・前 嶋 清・大河原邦夫
伊藤健次郎・綿貫重雄

千葉大学綿貫外科

われわれは前回は、腹水肝癌 AH 130 および人癌を対
象として、制癌剤の培養細胞に対する影響を組織培養を
用いて、主として形態学的変化を、制癌剤の濃度と時間
から種々検討した。また腫瘍細胞の増殖抑制効果を経時
的に、細胞数とその細胞の Histogram により判定した
制癌剤の投与方法に対する検討では、*in vitro* において
は、制癌剤の間歇大量投与方法が制癌効果が優れている。
今回は、腹水肝癌 AH 13 と人癌を対象として、特
に低濃度の制癌剤投与による影響を組織培養を用い
て検討した。培養方法は静置培養（円形または平型短
試、傾斜、37°C）、初代培養で、制癌剤は MMC, Thio-
TEPA, ChrA₃ の 3 剤を培地に添加し、それによる腫
瘍細胞の増殖抑制効果を経時的に細胞数とその細胞の
histogram から、*in vitro* 72 時間以内で検索した。培
地は仔牛血清添加 EAGLE's Medium で、Chloramp-
henicol 100 mcg/ml の割に加え、培地全量は 1.5 ml/
tube で、培養開始時の pH は 7.4~7.6 とした。[A]
腹水肝癌 AH 13 による実験〔1〕制癌剤持続投与 0.0001
~0.1 mcg/ml で実験を行なつた。0.1~0.01 mcg/ml の
濃度では、Thio-TEPA, MMC, ChrA₃ の順に増殖度
の低下をみるが細胞の変性、壊死は軽度で培養時間と増
殖抑制効果は略比例する。0.005 mcg/ml 以下の濃度で
は、3 剤共対照群に比し増殖度はやや高く、抑制効果
はみられない。〔2〕制癌剤を 1 時間、3 時間培地に
添加した後培地を制癌剤を含まないものに更新し、3 日
間の観察を行なつた。① 1 時間の場合 0.001~0.0001

mcg/ml では、3 剤共増殖抑制はみられず、対照群に比
し明らかに増殖度は高い。0.1~0.01 mcg/ml では、
増殖抑制は濃度と時間にはほぼ比例してみられるが軽度で
あり、3 剤間でも差は少ない。72 時間を経ても全例培
養開始時より増殖をみた。② 3 時間の場合 1 時間の場合
と同様の結果を示したが、0.1 mcg/ml の ChrA₃, MMC
では増殖抑制がやや強くなる。[B] 人癌組織と癌性腹水
（主として消化器癌）を対象として、静置培養（初代培養）
により同様の実験を行なつた。初代培養においては細胞
取量が少ないこと、培養細胞の増殖度が低い事等の欠点
があるが、3 剤共 0.001~0.0001 mcg/ml, *in vitro* 96
時間以内では、対照群よりやや増殖度が高いが、著明な
差はみられない。それ以上の高濃度では、3 剤共濃度と
作用時間に比例して増殖度は低くなり、細胞の変性、壊死
が増すが、ChrA₃ では特に著明であり、0.1 mcg/ml 72
時間で細胞は死滅する。MMC, Thio-TEPA では 96 時
間では軽度の増殖抑制がみられるが差はほとんどない。
AH 13 においては、0.001 mcg/ml 以下の低濃度制癌剤
の添加により、腫瘍細胞増殖は抑制されず、むしろ stimulate
される結果を得た。また人癌組織の静置培養にお
いても、著明ではないが類似した結果が得られる。われ
われがすでに発表した *in vitro* における制癌剤高濃度
短時間投与方法では、腫瘍細胞増殖抑制効果が著明であ
り、また今回の低濃度短時間投与方法の実験の結果では、
腫瘍細胞増殖抑制効果はみられず逆に stimulate され
る危険が考えられることから、現在の制癌剤では、組織
培養よりみると間歇大量投与方法が臨床的に意義あるもの
と思われる。

(168) 脳腫瘍に対する制癌剤の持続的動 脈内投与方法

佐藤 修・佐野圭司・早川 勲

東京大学脳神経外科

悪性脳腫瘍に対する制癌剤の全身投与方法は、転移性の
ものおよび原発性肉腫を除き臨床効果、延命効果ともほ
んど期待できない。われわれは悪性脳腫瘍に対し、制
癌剤の動脈内投与方法を試み、臨床的にも延命効果にもか
なり期待できることを確認して来た。制癌剤の種類によ
り short acting のものは分割的に long acting のも
のは持続的に動脈内に投与するが、今回は、Methotre-
xate を用いた持続的動脈内投与方法について報告。症例
は 20 例の悪性脳腫瘍で glioma 15 例、転移性癌 1 例、
悪性絨毛上皮腫 1 例、原発性肉腫 3 例である。制癌剤を
投与すべき動脈に catheterization を行なうが、経皮的
あるいは手術的に行ない、内頸動脈 18 例、総頸動脈、

椎骨動脈1例である。Catheter が内頸動脈に入つたことを確認するには fluorescein 液を catheter から注入、顔面に紫外線を照射すると、注入側前額部に蛍光をみることで証明でき、なお確実に、catheter から血管撮影を行なえば良い。制癌剤は、試作した特殊な小型の infusion pump で、catheter から持続的に注入する。制癌剤は、葉酸拮抗剤の Methotrexate を用い、1日量 50 mg を生理食塩水 1,000 cc に溶解、heparin を混用する。全身の副作用を防ぐ目的で、Citrovorum factor (folinic acid) を 6~9 mg 6時間おきに筋注する。治療持続期間は、脳腫瘍の世代時間を考え、一応4週間を目標とするが、副作用、患者の非協力等で必ずしもすべて充分と思われる期間持続できない。効果判定は客観的症狀の改善をみて決定する。持続期間が1週間以内のものは効果判定から除外し、16例について効果をみると、著効 43.8%、やや有効 25.0%、無効 31.2% で比較的良好成績と思われる。Glioma 群は、非 glioma 群に比しやや成績が悪い。効果と持続期間との関係を見ると、glioma 群では3週間以上持続したものに有効例が多いのに比し、非 glioma 群では、2週間以上でも有効のものが多い。合併症は、出血3例(1例死亡)、血栓3例(1例死亡)、局所感染1例、事故3例。副作用の中で多いのは、食欲不振 14例、胃腸障害 13例、頭痛、2次の脳浮腫、白血球減少症 9例、口内炎、発熱 8例、発疹 7例等である。副作用の中で、発熱は2次の脳浮腫による中枢性のものと考えられる。これらの副作用は、治療開始後約1週間内に現われ、中止後1週間以内で回復する。この方法を悪性脳腫瘍に過用する際問題となる点は、1) 長期に持続することが望ましいので、患者の十分な観察と管理が必要なのはもちろん、患者の協力が必要である。2) 2次の脳浮腫を来すことが多いので、減圧開頭術を行なう必要あり、抗痙攣剤の投与も必要である。3) 血栓を予防するために、制癌剤溶解液に抗凝固剤を混用する必要あり、また、大量出血の原因となるので、catheter 挿入部周囲の感染に注意すること等である。

〔質問〕 河村謙二(京都府大河村外科)

- 1) 減圧開頭術は動注前に各例やつておくのか、その大きさは何れ位か。
- 2) この動注法で副作用に発熱、頭痛などもあるが、特に嘔吐の障害は大きくないか。

〔回答〕 佐藤 修(東大脳外科)

- 1) 減圧開頭術は、infusion 開始前に行なう。比較的大きく開頭し、骨片は除去する。術前に腰椎穿刺で髄液を除去するのは危険である。
- 2) 嘔吐は、特に重症で食事の摂取がほとんどできな

いような例は少い。

(169) 転移性脳腫瘍並びに頭頸部腫瘍に対する制癌剤の動脈内大量投与について

伊藤一二・小山靖夫・片山啓吾

国立がんセンター外科

桐淵光智

同眼科

制癌剤の局所的投与方法に関する研究の一環として、今回は脳、頭頸部腫瘍に本法を応用することを企図し、初期の段階における成績をまとめためたので報告する。

I. 基礎的実験

体重 10 kg 前後の犬を用い Mitomycin C (以下、MMC) 1 mg/kg を総頸動脈に3分間で注入し、血中濃度、生体に与える影響等について観察した。

a. 血中濃度、MMC 注入と同側の頸静脈、および一側股静脈より経時的に採血しそれぞれの血中濃度を測定した。

- ① 同側頸静脈血中濃度は注入開始と同時に急速に高まり、最高値は平均 11.1 mcg/cc であった。
- ② 全身血中濃度は上昇、下降ともに緩徐で、その最高値は平均 1.3 mcg/cc に留る。
- ③ 頸静脈血中濃度は、全身血中濃度に比し長時間高値に留る傾向があり、注入開始後 30~40 分を経過して、始めて両者は同一 level となる。

b. 生体の影響、脳波、呼吸、脈搏、顔面四肢の反射等を、注入前後で観察比較したが、何れにも特別の変化を認めなかつた。術後 1~2 日の間に嘔吐、食欲不振を示した動物があつたが、一過性で何れも軽快回復した。その他術後1週間目頃より脱毛を注入側に認めたが、1~2 カ月で回復の兆を見る。注入後 2 日~2 カ月の間の各時期に動物を屠殺し脳髓の組織学的検索を行なつたが、H・E 染色、Nissle 染色、髄鞘染色等では特別の変化を認め得ない。

II. 臨床例への応用

① 症例および方法。原発性脳腫瘍(グリオブラストーマ)1例、転移性脳腫瘍5例、頭頸部悪性腫瘍6例(計12例)に MMC を1回 10 mg 連日使用で計 30~50 mg 投与した。注入方法は、腫瘍の占拠する部位に応じて、外頸、内頸、総頸動脈、あるいは椎骨動脈に挿管し、1回量を3分間ないし60分間に注入した。

② 副作用。注入時に一過性の顔面潮紅、異常感、嘔吐を見た例が少数例乍ら認められた。併し何れも軽度で短時間で回復した。外頸動脈流域に薬剤が注入された例