

離されることが多く、とくに混合感染の型で弱毒常在菌が同時に検出される場合が多くある。このような観点から S. 42.4 から無作為に 79 例を選び、術前の咽頭および術後 3, 5, 7 日目に創縫合糸から細菌の分離を行なうと同時に創感染の有無および程度を ROBERTSON の分類により判定したところ、準無菌、無菌手術におけるⅢ度以上の感染頻度は約 10% であった。これらの症例を感染例、非感染例に分け、宿主側因子として術前の肝機能、貧血、総蛋白 A/G 比の異常の 3 項目につき  $\chi^2$  検定を用い検討したところ、肝機能異常、貧血はともに 10~20% の危険率で感染に影響を及ぼしておつた。また手術的要因として、手術清潔度、手術時間、出血量につき、 $\chi^2$  検定により検討したところ、手術清潔度は 0.1% 以下の危険度で、手術時間については 0.1~1% の危険率で、また出血量は 2~5% の危険率で感染に影響を与えておつた。感染例の 7 日目の創縫合糸からの分離菌は準無菌手術で 90% に、無菌手術で 70% に Gram (-) 菌が証明され、全例に予防的抗生剤投与を行なつたことから、抗生剤による菌の Selection によるものであることも考えられる。準無菌手術で ROBERTSON の分類Ⅲ度以上の感染を認めた症例 7 例中 4 例が混合感染例であり、そのうち 3 例はブ菌と Gram (-) 桿菌の混合感染例であつた。また予防的投与抗生剤に対しても高い耐性を示しておる菌が多く見られた。創縫合糸から経時的に分離した菌種はブ菌では 3 日目 8 例、5 日目 6 例、7 日目 3 例と時間の経過とともに減少しているのに反し、Gram (-) 菌では 3 日目 6 例、5 日目 11 例、7 日目 18 例と徐々に増加しておる。創分離ブ菌の薬剤感受性が Gram (-) 菌の薬剤感受性に比し、かなり高いことを考え併せると予防的投与抗生剤により徐々に創内細菌が Selection され、一般に低い感受性を示す Gram (-) 菌が術後経過とともに増加して来るものと考えられる。

予防的投与抗生剤として最も多く用いた TC につき、TC 投与例の創分離菌の MIC の変動をみるとブ菌ではほとんど変動がみられないのに反し、GNB では時間の経過とともに高い MIC を示し 7 日目には実に 11 例中 8 例が 25 mcg/ml 以上の値を示しておる。このような創分離菌の変動に、細菌の生物学的性状が如何なる影響を及ぼすかブ菌について Coagl. DNase 活性につき検討すると、感染病巣から分離されたものでは Coagl 陽性株は 73.9%、DNase (+) 株 82.6% であり両者の一致したものは 65.2% と大多数であるが、感染病巣以外から分離された Coagl (+) 株は 33.3%、21.8%、DNase (+) 株では 33.3%、24.0% と明らかに大差がみられる。同様に DNase (+) Coagl (-) 株が感染病巣より 17.4% に検出されるのに比し、非感染創からは 6.1%

に分離されるのに過ぎず、この株も病原ブ菌と見做されるのではないかと考えられる。Gram (-) 菌の DNase 活性につき検討してみると、化膿巣および創縫合糸から分離した菌で ROBERTSON の分類Ⅱ度およびⅢ度の感染を示した症例では 49 株中 51% に DNase (+) であるのに非感染巣由来の G (-) 菌ではわずかに 27 株中 22.2% にのみ DNase 活性を認めた。経時的創縫合糸でも、3 日目に分離せられた G (-) 菌では 6 株中 2 株、5 日目では 8 株中 3 株、7 日目では 17 株中 10 株と徐々に DNase (+) 株の上昇を認めたが、ブ菌に比し DNase 活性はかなり低くその病原性との関連について以後さらに検討を加えたい。

#### 第 19 群 H.P.D その他

#### (268) 抗生物質の効果におよぼす胆汁酸の影響 (I) 胆汁酸適応菌に対する抗生剤の作用

真下啓明・加藤康道・斉藤 玲  
松本義孝・桜庭喬匠・松井克彦  
北海道大学真下内科

胆汁酸と細菌の関係については種々の事実が知られている。胆汁酸の抗菌力はグラム陽性球菌群に対して著明でありグラム陰性桿菌、とくに大腸菌に対しては劣つていいる。また抗生物質の抗菌力に胆汁酸が影響を与えることも知られている。今回我々は胆汁酸適応大腸菌と非適応大腸菌の各種抗生物質に対する生菌数の相違を大腸菌 C-43 株を用いて検討した。適応大腸菌は 10 mg/ml の DC および C 酸含有 T.S.B. に I 代から V 代まで、非適応大腸菌は胆汁酸の含有しない T.S.B. に、さらに V 代適応大腸菌を I 代から V 代まで胆汁酸を含有しない T.S.B. に培養したものをリバースとして使用した。抗生物質は CER, AB-PC, KM, CP の 4 種について検討した。

感受性の変化は平板希釈法で 25 mcg/ml より 0.78 mcg/ml まで 2 倍希釈で行なつたが、非適応菌では CER 3.12 mcg/ml, AB-PC 6.25 mcg/ml, KM 6.25 mcg/ml, CP 12.5 mcg/ml であり C 酸適応大腸菌では CER 3.12 mcg/ml, AB-PC 6.25 mcg/ml, CP 12.5 mcg/ml と変化を認めないのに対し KM では I 代より V 代まで 1.56 mcg/ml と著明な感受性の変化が見られ、DC 酸適応菌では CER 3.12 mcg/ml, AB-PC 6.25 mcg/ml, KM 6.25 mcg/ml, CP 12.5 mcg/ml と非適応菌との間に感受性の相違を認めなかつた。C 酸適応菌のリバースは CER, AB-PC, CP 感受性の変化を認めないが、KM で I, II 代ともに 3.12 mcg/ml と適応菌の態度が残つていいるがⅢ代以降 V 代まで 6.25 mcg/ml と完全に非適応

菌の態度に逆らっており DC 適応菌のリバースは CER, AB-PC, KM, CP とともに非適応菌の感受性と同一であった。次に生菌数の時間的推移を振盪培養で 1, 2, 3, 5 時間について検討し各種抗生剤の濃度は 12.5 mcg/ml とした。CER では C 酸適応菌では非適応菌に対し著明な生菌数の減少を認めⅢ代リバースでは非適応菌との間に著明な差を認めない。DC 酸適応菌でも同様の結果を認めた。AB-PC では C 酸適応菌は非適応菌に対し減少を認めⅢ代リバースでは非適応菌に対しむしろ生菌数の増加を認めた。DC 酸適応菌でも同様の結果を認めた。KM では C 酸 V 代適応菌は非適応菌に対し著明な生菌数の減少を認めⅢ代リバースでは非適応菌との間に差を認めない。これに対して DC 酸 V 代適応菌では著明な差を認めなかつた。CP では C 酸適応菌, DC 酸適応菌ともに非適応菌との間に差がなかつた。なお V 代適応菌のリバースは AB-PC I 代, CER, KM ではⅡ代まで V 代適応菌と同様の態度であり, 各々 V 代リバースでは非適応菌と同様の態度となつた。すなわち簡単に適応現象を得て簡単にその現象のとれるのが認められた。以上のように KM を除いては適応菌と非適応菌との間に感受性の差を認めないが生菌数では差を認めた。未だ細菌に対する胆汁酸の作用機序は明らかでないが電顕的に大腸菌で細胞壁の融解, 原形質核様物質の凝塊或いは逸脱の像が認められたとの報告があり, CER, AB-PC は細胞壁ムコペプチド合成を阻害すると言われ適応菌に強く作用すると思われる。KM および CP の態度については明らかでないが C 酸適応菌の KM に対する態度と DC 酸適応菌の態度に著しい差を認めることから C 酸と DC 酸の細菌に対する作用機序が異なることが予想され, 今後さらに検討したいと思つている。

### (269) 肝障害の感染に及ぼす影響について (第 3 報)

杉山浩士・東 朋嗣・岩崎 峭  
尾崎達郎・赤尾 満・羽田 回  
三木文雄

大阪市立大学第一内科

肝障害の感染に及ぼす影響の因子の究明のため, 昨年度本総会に於いて報告した網内系機能測定について, 肝障害時の血清抗菌力, 腹腔内細胞の細菌貪食能が, 正常と如何なる差を示すかを検討した。

#### 1) 血清抗菌力

急性肝障害家兎は  $\text{CCl}_4$  0.5 ml/kg を連日 2 日間筋注して 48 時間後を, 慢性肝障害家兎としては  $\text{CCl}_4$  0.5 ml/kg 毎週 1 回 4~6 週間筋注したものをを用いた。被検家兎

各倍数希釈血清 0.9 ml と, HIB 37°C 16 時間培養ブドウ球菌 209 P 菌液 0.1 ml を 37°C で 1 時間接触させ, これの 1 ml を HIB 100 ml に加えて 37°C にて培養を行ない, その後経時的に波長 630 m $\mu$  にて比濁し, その透過度を血清非添加, すなわち滅菌生食水のみと接触させたコントロールの透過度と比較した。コントロールの発育曲線は, 個々の実験試行時多少の差異を認めるので, 培養時間に於けるコントロールの発育 (透過度) に対する各濃度血清との接触菌の発育 (透過度) の比率を以つて発育抑制率として, 急性および慢性肝障害家兎と正常家兎について比較検討した。正常家兎では, 血清 4 倍希釈まで強い発育抑制がみられ, 急性肝障害では, 血清各希釈段階とも正常家兎より強い抗菌力を認めた。慢性肝障害家兎では, 急性肝障害家兎より, さらに強い血清抗菌力を認め, 高倍率希釈まで菌の発育を認めた。

PC-G 15,000 u/kg を筋注した場合, 正常家兎血清 32 倍希釈まで強い抗菌力が認められるが, 高倍率希釈ではかえつて PC 非投与時より抗菌力は低下する。急性肝障害の場合もこれと同様の傾向を示すが, 慢性肝障害では PC 非投与時と同様正常家兎より強い抗菌力を示す。

#### 2) マウス腹腔内細胞の細菌貪食能

急性肝障害マウスとしては 40%  $\text{CCl}_4$  オリーブ油溶液 0.1 ml の経口投与 48 時間後に, 慢性肝障害は同溶液 0.1 ml ずつ毎週 2 回 8 週間経口投与したものをを用いた。これら急性および慢性肝障害マウスおよび正常マウスに対し肺炎桿菌 0.7 mg/ml 浮遊液を 0.2 ml 腹腔内に注射し, その後 6 時間まで経時的に毛細管ガラスを用いて腹腔液を採取して塗抹標本を作り, 染色鏡検した。肺炎桿菌接種後の腹腔内細胞分類の経時的変動をみると, 各群とも感染 2 時間以後好中球増加を認めるが, 急性肝障害では正常群に比しその程度が強く認められ, 慢性肝障害ではさらに強く認められる。腹腔内細胞中, 大単核細胞の貪食率は肝障害時, とくに慢性肝障害時に低下する傾向が認められ, 肝障害のマウス腹腔内大単核細胞による肺炎桿菌貪食能は低下するようである。

### (270) 多剤耐性化の現状における化学療法と乳児糞便中の細菌変動について

藤井良知・市橋治雄・紺野昌俊  
竹下尚徳・八森 啓  
東大分院小児科

今回は NA, AB-PC 投与前後の急性消化不良症児の糞便の細菌叢の変化と, TC, CP 剤投与前後のそれとを比

較検討した結果を報告した。すなわち、CP, TC 剤では総菌数、大腸菌数の変動はあまり著明ではない。それに比し AB-PC 例で、総菌数、大腸菌ともに大きな変動がみられ、NA 例では AB-PC 例ほどの変動はみられなかつた。

この理由としては、CP, TC 剤に大腸菌、クレブシエラの大半が耐性を示し、AB-PC, NH に耐性菌が多くないことに起因するものと思われた。

クレブシエラ、緑膿菌、プロテウス等は NA, AB-PC 例で検出例が多くなく、比較することはできなかつた。

### (271) 術後感染における宿主側因子の検討

池田 恵一・木村 範孝  
池田 俊彦・小 副川 武  
九州大学井口外科  
五 島 応 安  
九州大学皮膚科

教室における昭和 38 年から 42 年までの 5 年間の術後創感染症を疾患別にみると、食道癌、胃癌、直腸癌等の悪性腫瘍例では、胃潰瘍、腸良性疾患に比し創感染率が高く、また、摘脾等の腹筋切断を必要とする疾患や、Hirschsprung 病、イレウスのように宿便の排出が困難なものでは、腹壁の網糸膿瘍を作り易いという結果を得た。これらの術後創感染症の発生には、細菌側因子の他に、宿主側の全身的並びに局所的因子が大きく関与することは諸家の広く認めるところである。

われわれはまず全身的因子の 1 指標として網内系機能をとり上げ、congo red 法により胃手術 474 例（胃癌 362 例、胃良性疾患 112 例）について検討を試みたが、とくに胃癌例では、congo red index 70 未満、すなわち網内系機能良好なものに比し、congo red index 70 以上の網内系機能不良群のほうが約 2 倍近くの術後創感染率を示した。また癌例では非癌例に比し網内系機能低下例が遙かに多く、網内系機能低下が創感染に或る程度関与していることが窺われた。

次に血清総蛋白量と術後創感染との関係を胃手術 497 例（胃癌 354 例、胃良性疾患 143 例）についてみると、とくに癌例においては総蛋白量が低いほど創感染の発生率が高く、総蛋白量 7.0 g/dl 以上の創感染率 5.5% に比し、6.0 g/dl 以下では 13.6% に達した。血清アルブミンとの関係を胃癌例 223 例についてみると、血清アルブミン 50% 以下のものでは感染率が最も高く 8.1% を示すのに対し、アルブミン量が増加するにつれて漸次感染率は減少し、アルブミン 60% 以上のものでは 50%

以下のものの約 1/2 にとどまっていた。すなわち血清総蛋白および血清アルブミンが高いものでは、低いものに比し術創の感染が起こりにくい傾向が窺われた。また、血清  $\gamma$ -グロブリンと術後創感染との関係では、15~20% とほぼ正常値を示すものが他の症例にくらべ感染率がやや低かつた。

次に局所因子についてみると、膿汁中の pH は 6 近くの酸性を示すことが多く、pH が酸性に傾くと TC, KM, GM 等は著明に効力を減じ、SM, EM 等も軽度ながらその傾向がある。すなわち感染創の局所に抗生物質を使用する際には、中性液あるいは弱アルカリ性の重曹液等により頻回に洗滌後使用することが上記のような抗生物質の効力を発揮させるために最も合理的と考えられる。いつぼう、短期間内に行なわれた再手術創、挫滅創、血腫形成創などが創感染を生じ易いことはしばしば経験されるが、われわれは家兎およびマウスを用いこれらについて実験を行ない、単なる切創に比し血腫や筋挫滅のあるものでは創感染を生じ易い傾向を認め、このような創局所因子が術創感染に関与していることを示唆していると考えられた。

以上、手術創感染の 2, 3 の問題点に触れたが、感染症発生時に細菌の側からその起原菌を確かめて適正な化学療法剤を選択使用することの必要性はもちろんであるが、宿主の側からもその全身のおよび局所的因子を考慮して感染予防および治療に力を注ぐべきことを強調する。

### (272) リゾチームの免疫力増強に関する研究

野本 亀久雄・良 永 拓 国  
真 柴 温 一・小 池 聖 淳  
九州大学細菌学教室

リゾチームの生物学的機能に関しては、たんに muremic acid の  $\beta$ -glucoside bond の加水分解酵素としての働き以外に種々の生物学的活性が存在することが知られている。たとえば抗ウイルス作用も報告されているし消炎作用、フィブロラスチンの分裂促進作用なども報告されている。我々はリゾチームの活性の一部として免疫能力の増強にリゾチームが寄与するのではないかと考え一連の実験を行なつた。

すなわち、人工的に免疫能力を低下せしめた動物群にリゾチームを投与しその免疫力の回復を抗体産生細胞の数を非投与群と比較することによつて測定した。

この実験は次の 2 点を目的とした。

1) 新生児胸腺摘出による免疫能力の低下と正常幼若マウスに対するリゾチームの効果。

2) 成熟マウスの胸腺摘出, 放射線照射による免疫能力低下に対するリゾチームの効果。

これらを調べるために次のような2つの実験を行なった。

実験 I) 生後20日令の CF<sub>1</sub> マウスを1) 正常マウスと2) 新生児胸腺摘出マウスに分けその各々についてリゾチーム投与の効果調べた。

すなわちマウスの腹腔内に卵白塩化リゾチーム5mgを20日間投与し20%等赤血球0.1mlを抗原として腹腔内に投与し, 4日目に JERNE の方法によつて脾臓の抗体産生細胞数を調べた。

① 正常マウスにおいてはリゾチーム投与群と非投与群において有意の差は認められなかつた。

② 新生児胸腺摘出マウスでは一般に正常マウスにくらべて Plaque forming cell は少く1例を除いてリゾチーム投与群は非投与群にくらべて Plaque forming cell の増加がみられた。

実験 II) 成熟マウスを次の4群に分けた。

1) 正常マウス 2) 成熟時胸腺摘出マウス 3) 450 R 放射線照射マウス 4) 成熟時胸腺摘出を行ない, 2日後に450 R 全身照射を行なったマウスの4群に分け各々についてリゾチーム投与の効果を実験 I と同様の方法で羊赤血球に対する脾臓の抗体産生細胞数を調べた。

① 成熟正常マウスにおいては, 実験 I の場合と同様リゾチームの効果はみられなかつた。

② 成熟時胸腺摘出マウス(リゾチームの投与は胸腺摘出後3日目より始めた)では一般に正常マウスに比較して軽度の Plaque forming cell の低下がみられたが, リゾチーム投与群と非投与群には有意の差は認められなかつた。

③ 毎分70 R 計450 R 照射を行なった群(リゾチームの投与は翌日より行なった)では正常マウスにくらべて Plaque forming cell の減少がみられ, リゾチーム投与群において非投与群と比較して有意な Plaque forming cell の増加がみられた。

④ 成熟時胸腺摘出を行ない2日目に450 R 全身照射を行なった群(リゾチームの投与は放射線照射した翌日より始めた)ではリゾチーム投与群に1例, 他の4例にくらべて Plaque forming cell の多い例があり, また実験中のマウスの死亡のためリゾチーム投与例が2例しかなく, この実験からはリゾチームの効果を判定することは出来なかつた。

以上の実験結果よりリゾチームは正常の免疫能力をさらに増強する作用は認められなかつたが, 人工的に免疫能力を低下させた状態ではリゾチームの投与により免疫能力の増強が抗体産生細胞の増加によつて示された。

## 第20群 制癌剤 I

### (273) Mitomycin-C(MMC)の HeLa 細胞に及ぼす影響

神前五郎・寺沢敏夫・谷口健三

日下部 博・高木英幸

大阪府立成人病センター-外科

我々は数年来 HeLa 細胞に対する MMC の増殖抑制効果, とくにその division cycle との関係について検討を加えて来た。

さらに我々は顕微鏡映画による長期間の観察を行ない, MMC 1  $\mu$ g/ml 1時間処理では, 大きく分けて世代時間の前半の細胞は後半のものにくらべて, 強い影響を受けるが, 後半のものも次の世代では, なんらかの障害を受けていることを明らかにした。

今回は, さらに臨床的に期待し得る条件に近い 0.5  $\mu$ g/ml, 1時間という Cell growth のそれほどおかさされない条件を選び同じ手法によつて, division cycle 上の各期について細胞の受ける影響に差がないかどうかを検討した。

Microcinematography に <sup>3</sup>H-TDR による Pulse labeling を併用して division cycle 各期の長さを推定した結果, 世代時間22時間, G<sub>1</sub>期11時間, S期6時間30分, G<sub>2</sub>期+M期4時間であつた。

さて MMC 処理を受けた HeLa 細胞について検討してみると, MMC 処理を受けた世代では, 分裂後早い時期に処理を受けたものほど, 分裂の頻度が低くなる傾向を示し, 死滅という点では G<sub>1</sub>期後半から S期への移行期に, やや高い頻度を示す。また G<sub>2</sub>期のものでは死滅するものはなかつた。さらに著明な世代時間の延長を来すものが, 分裂後, 早い時期に処理を受けたものほど多いことが観察された。

従がつて MMC の HeLa 細胞に及ぼす影響は, 処理後の第1世代では division cycle 前半のほうがより大きいと推定される。

次に第2世代では各期の間に, 分裂および死滅の頻度に於ける差は著明ではないが, 第1世代で処理を受けたものにも死滅するものが見られた。

以上の結果から分裂後早い時期に処理を受けたものほど, 第1世代で MMC による影響は大きい, 第2世代に入ると, どの時期に処理を受けていても, 全部分裂に移行するものではなく, MMC による影響を受けていることが推測される。このことは先に我々が cell growth のない 1  $\mu$ g/ml, 1時間という条件で観察した影響

の受け方と、本質的には同じような pattern であると  
考えられる。

### (274) マイトマイシンCの再生肝細胞に 及ぼす影響

岩田卓造・天羽弘行

山田賀子・太田和雄

愛知がんセンター研究所化学療法部

マイトマイシンCが細菌および動物細胞のDNA合成を抑制することはすでに知られているが、細胞増殖を抑制する作用を詳しく解明するために、この薬剤の細胞回転に及ぼす作用に注目した。本実験ではラットにトリチウム標識チミジンを注射し、DNA合成期を終えた細胞が分裂期に入る過程を組織オートラジオグラフを用いて検討し、他の制癌剤の作用とも比較した。

実験にはラット再生肝の組織細胞を用いた。すなわち、ほぼ同調的に始まる強いDNA合成と細胞分裂を利用した。肝切除術はHiggines-Andersonの方法にしたがい、術後所定の時刻に $^3\text{H}$ -チミジン (sp. act 5,000 mc/mM) 50  $\mu\text{c}$ , 0.5 ml を尾静脈より注射し、正確に2時間後に動物を屠殺し肝組織をとり出し、一部はSCHMIDT-THANNHAUSER法でDNAを分離測定し、他方をオートラジオグラフ用として固定した。DNA合成はspecific activity(d. p. m./mg DNA)として表わし、分裂期(前, 中, 後, 末期)にある細胞数を計測した。再生肝のDNA合成は術後27~36時間目、肝細胞核の分裂指数は33および47時間目に上昇した。

他のラット群には術後24時間目に上記の $^3\text{H}$ -チミジンを注射し、その後1, 3, 6, 9……時間の間、生体内でラベルされるように動物を保温飼育し、所定の時刻に屠殺し肝組織標本を作成した。標本分裂像を示す肝細胞数を上記の分裂期にある細胞100個について測定し、Labeled Mitosis(百分率)として表わした。この結果、100%標識分裂像が現われたのは、 $^3\text{H}$ -チミジン投与後6時間目であつた。

各種薬剤の注射は腹腔内とし、マイトマイシンC 2 mg/kg, エンドキサン 200, テスパミン 5, トヨマイシン 0.5(いずれも肝切除ラットに於けるLD<sub>50</sub>の1/2量)を与え、術前24時間、術後5時間目および24時間目の3群について別々に検討した。術前および術後5時間目にマイトマイシンCを投与した場合はDNA合成および分裂を抑制し、標識分裂像が現われなかつた。合成開始後すなわち術後24時間目に投与した場合、DNA合成は阻害され、分裂は約6時間おくれて著明に抑制された。また薬剤と $^3\text{H}$ -チミジンを術後24時間に同時に注

射した結果、標識分裂像の出現は約3時間おくれた。エンドキサンの効果は、術前または術後5時間目に投与した場合標識分裂像が現われず、テスパミンは分裂を阻止したがDNA合成を逆に促進した。トヨマイシンはいずれの投与時刻に変えた場合にも中等度に抑制した。

以上、再生肝細胞に及ぼす薬剤の効果を比較した結果、マイトマイシンCとトヨマイシンはDNA合成および細胞分裂をともに抑制した。エンドキサンとテスパミンは分裂を抑制したが、DNA合成を逆に促進した。これらの事実から薬剤の持つ作用の質的な差を考えたい。とくにマイトマイシンCがもつ著明な分裂阻止効果を期待するためには、その細胞のDNA合成期以前に投与すべき特異な作用機序を確認した。

### (275) 人癌初代培養による制癌剤感受性 試験の研究 (第1報)

柴田清人・江崎柳節

佐藤史朗・船橋国博

名古屋市立大学第一外科

癌の化学療法実施に当りその担癌生体個々の癌細胞に最も有効な薬剤を選択し宿主、癌組織双方に適正な化学療法を行なうべきであることは論をまたない。それには細菌性炎症に於ける抗生剤感受性検査の如き適確な方法が要求される。

われわれは最近人癌の初代組織培養を試みこれに対する制癌剤の感受性について検討中である。われわれの方法は手術的に得られた人癌組織をRPMI 1640, 培地にてCO<sub>2</sub>-incubatorで静置培養を行なっている。

この方法で培養された人癌由来細胞に対する制癌剤の感受性は臨床的に改善を得た薬剤とよく一致する結果を得つつあり目下検討中である。

また培養細胞に作用させる薬剤の濃度と作用時間等による細胞のその後の態度は適正投与の上を考えるべき問題であり、これらの点に就いて2, 3の知見を報告する。

### (276) Organ culture を利用せる制癌剤 感受性試験について

大西峰雄・里見隆・伊藤英太郎

東弘・陣内伝之助

大阪大学陣内外科

制癌剤を使用するに際して、個々の症例について適当な薬剤を選択することの必要性が痛感され、近年諸種の制癌剤感受性テストが実用化されてきている。われわれの教室でも、従来から *in vitro* において制癌剤で処理

したあとの組織切片の DNA への放射性前駆物質のとりこみを指標として、各種腫瘍組織の感受性を検する方法を考案し、これを人悪性腫瘍にも実用して、良好な結果を得つつあり、このことは第 13 回本学会総会以来報告してきた。

今回は、この方法に加えて、比較的とりこみの少ない腫瘍組織についても、また薬剤のより低濃度の場合についても検討するために、器官培養を利用せる制癌剤感受性試験を企て、若干の知見を得たので報告する。

基礎実験に用いる動物腫瘍には、ラット腹水肝癌のうち、比較的容易に皮下腫瘍を作るものを選んだ。皮下腫瘍は原則として 1 千万個の細胞を 80~100 g の呑竜ラットの背部皮下に注射して後 7~10 日目のものを用いた。

培養には stainless steel grid を利用し、放射性前駆物質として、 $^3\text{H}$ -thymidine と  $^{14}\text{C}$ -formate とを用いた。基礎的条件を決定するために、標識時間と DNA へのとりこみとの関係をみたところ、6 時間の添加で充分であることが分つた。また各培養日における培養組織の DNA 合成能をみると、3 日目まではかなり高い値を示している。

DNA の抽出は、organ culture した少量の組織片より始める場合 glass homogenizer を用いることによる loss をさけるために、最初から KOH を添加する SCHMIDT-THANNHAUSER の変法を採用した。これは再生肝を用いての基礎実験により原法と全く差のないことが確かめられた。

以上の成績から、感受性試験法として、われわれは、次のような方法を用いた。まず、組織片を 24~48 時間培養した後に薬剤を添加して 6 時間 incorporate させる。しかる後組織片より、上記の SCHMIDT-THANNHAUSER の変法で DNA を抽出し、その比放射能を測定した。

この方法で一般に MMC, Nitromin に対して耐性を示すとされている AH 13 R について感受性を *in vivo*, *in vitro* で比較検討したところ、*in vivo* では MMC 1.5 mg/kg, Nitromin 40 mg/kg の 1 回注射の場合では、AH 13 R は完全に耐性である。いつばう *in vitro* で諸濃度の薬剤を添加した場合の DNA 合成能をみた結果、MMC 0.2 mcg/ml, Nitromin 1.6 mcg/ml を添加した培地中での DNA 合成能を指標とすることによって、*in vivo* での感受性の傾向を知ることが出来るのではないかと考えられる成績を得ている。この場合 autoradiography を行なつてみると、銀粒子は間質細胞にはほとんどみられず、腫瘍細胞にのみ認められた。

今後、なお、各種の腫瘍組織について、基礎的な検討

を重ねるとともに、人悪性腫瘍材料について応用していく考えである。

[追加 276] 田崎 寛 (慶大泌尿)

昭和 42 年本学会東日本支部会で教室の尾関が発表したとおり、我々も人膀胱腫瘍組織について Organ culture を利用した感受性テストを行なつている。

とくに培養方法としては外部から chamber 内の気相が control できる装置を考案し、とくに 2 気圧空気 CO<sub>2</sub> を加えた場合に、ひじょうに良好な培養結果を得ている。

組織を水面に維持するためには Silicon ガーゼと gel foam スポンジを利用している。

この方法で行なつた control と Thio Tapa 5  $\mu\text{g}/\text{ml}$  を加えて 5 日間培養した膀胱腫瘍組織の所見を供覧した。

## (277) 制癌剤投与形式の研究

坪井 重雄・梶原哲郎・鎌田哲郎  
丸野敏次郎・国吉 登

東京女子医大第二病院外科

マイトマイシン C 大量衝撃療法を 41 年度本学会に発表以来約 3 年間にわたり、悪性腫瘍患者に本法を施行して来たが今回は本法単独および反覆投与症例と本法に骨髄移植および代謝拮抗剤を長期使用した症例とに分けてその臨床効果、副作用、延命効果、死亡原因等より検討を加えてみた。さらに本法の無効症例よりマイトマイシン C 1 mg/kg の大量を投与しても腫瘍効果はもちろんのこと、生体に対する副作用も著明でないことに気がつきその原因については種々考え得るが、我々は宿主の体液性要因の 1 つとして血液の pH を考え実験を行なつたので報告する。

本法の単独および反覆投与群は手術不能末期癌 42 例を含む 51 例で A 群、本法に骨髄移植を併用した B 群は 10 例で末期癌は 6 例、C 群は 26 例で本法に骨髄移植を併用した後、代謝拮抗剤 5Fu 500 mg 週 2 回投与を長期に行なつた群で末期癌は 20 例であつた。D 群は本法の適応外と考えられた症例群でマイトマイシン C + 5Fu 間欠併用療法 6 例、5Fu 単独使用 9 例を含む計 30 例である。

各群の末期癌症例を対照として臨床効果を見ると自覚的、他覚的改善は 70% 以上認められる。副作用は A 群にあつた著明な白血球減少血小板の減少等は B, C 群では認められなかつた。D 群では検査項目の悪化に併ないマイトマイシン C を中止して 5Fu のみを持続させる利点がある。延命効果を比較すると A 群では 3 ヶ月以内死

亡が 42.8%, C 群では 5%, B, D 群では症例が少ないため省略したが C 群では明らかに延命効果が認められる。死亡原因より見ると A 群, C 群とも癌腫の再燃による死亡が多いが C 群では肺炎, 出血傾向等による死亡の無いのが目立つ。また C 群の再燃例を検討すると 5Fu の長期投与を途中で中止されたものが多い。

本法を施行しても約 25% の症例に無効が認められるためその原因の 1 つとして血液 pH を考えて実験を行なった。

実験方法: O 型血清を加えた MEM 培地を 0.0N NaOH,  $K_2PO_4$  で pH 6.5~7.6 までを調整し, 吉田肉腫(Y.S)細胞を  $10^6$  コをラットより摂取して同上培地でマイトマイシン C 10 mcg/dl, 20 mcg/ml と 37°C 90 分接触せしめ, SHRECK の方法で Y.S 細胞の生存率を測定し, ライトギムザ染色で細胞の崩壊過程を比較した。更に Y.S 細胞の生存率を確認するため接触せしめた培養液をラット腹腔内に注入しその延命効果を見た。

実験結果: ① マイトマイシン 10 mcg/dl での接触では Y.S 細胞は死滅しないが 20 mcg/dl で pH 7.3 で死亡率が上昇し pH 7.5 以上で減少する傾向を示した。

② *In vitro* の実験を確認するために行なつたラットの延命効果を見ると, 同様に pH 7.3~7.5 で腫瘍死するものが少い。

③ 腫瘍細胞の形態学的変化では弱アルカリ側で Mitose の抑制, 腫瘍細胞の空胞が著明である。実験より我々はマイトマイシン C の有効な血液 pH が 7.3~7.5 であるのを知り, 本法施行前に癌患者の pH を測定, 補正して本法を実施している。また本法施行後骨髓移植を併用し, 臨床症状改善後 5Fu を長期使用することにより癌末期患者の延命をはかっている。

## (278) Endoxan の投与方法, 特に大量療法の可能性について

神前五郎・寺沢敏夫

日下部博・高木英幸

大阪府立成人病センター外科

悪性腫瘍の化学療法を行なうにあたって, 制癌剤の投与量ならびに投与方法の検討はなおざりにできない問題である。今回われわれは以前よりたびたびその臨床効果を報告してきた Endoxan について, 根治手術不能の進展癌患者 30 例を 3 群に分ち, 総投与量を同一 (32 mg/kg) とし, 1 回大量衝撃投与, 中等量間歇投与 (8 mg/kg × 4 回, 4 日目毎), 少量連日投与 (2 mg/kg × 16 回) を行なつてこの問題を比較検討してみた。

成績は, 末梢血白血球数は大量群で投与後 8~12 日目

に最低値 (全例 1,000~3,000/cmm) となるが 20 日をすぎると 3,000/cmm 以上に回復する。これに反し中等量, 少量群では急激な白血球減少はみられず, 漸次減少の傾向を示し少量群では投与終了と同時に回復の兆をみせる。この白血球数の減少は主として好中球の減少によるものであり, 核型の若いものに強い影響を与えている。単球増加は大量群で投与後 12 日目より認められた。赤血球数, 血色素量, Ht 値, 血小板数では大量群で 10 日目頃にわずかの低下を示すが, 各群ともほとんど影響を受けていない。凝血能における検査でも中等量群に 1 例線溶現象がみとめられたのみで, プロトロンビン時間にも有意の変動をみとめなかつた。

骨髄系の変化を Endoxan 投与前と投与後 20 日目のみだが, 有核細胞数は大量, 中量, 少量群のいずれも減少傾向を示すが, 20 日目の時点ではさほど大きい影響をうけておらず, 中等量においては明らかに障害が残っている。

ところがこれを FRIEDMAN-森田氏法で測定し, 計算した Endoxan 投与後の血中濃度面積と関係づけてみると, いろいろの問題を提起する。すなわち Endoxan とこの活性型の血中濃度面積の総量は約 260  $\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$  で 3 群ともほぼ一致しているが, 活性型のみで見ると大, 中, 少量それぞれ 83, 152, 80  $\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$  であり, 中等量ではほぼ倍の値が得られる。このことは中等量の場合, 最終の投与が 12 日目であることも影響しているけれども, 20 日目の時点で骨髄の回復が遅れており, 末梢血でも白血球数の回復がみられないことに関係があるのかも知れない。また, 1 回投与時の活性型の濃度面積をみると大, 中, 少量それぞれ 83, 38, 5  $\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$  であり, 骨髄が 1 回の投与でさうとう重大な障害をうけるのは 40  $\mu\text{g/ml}\cdot\text{hr}$  以上ではないかと考えられる。さらに Endoxan の活性化率をみると中等量の場合 55% と最も高い。大量の場合は 28% と最も低くこれは肝での活性化の能力に限界があることを示唆する。

肝機能検査, 尿検査も経日的に行なつたが大量群でも異常所見を認めなかつた。副作用については悪心嘔吐, 食欲不振はどの群でも認められるが, anticholinergic の薬剤を投与することで防止することができ, 脱毛, 膀胱炎は大量投与の時のみ認められた。

以上の諸成績よりして少量, 中等量はもちろん大量投与も, なんら特別の処置を施さずとも安全に使用できるものと考えられる。