抗腫瘍性溶連菌の有効因子に関する研究-4-溶連菌菌体内成分60F並びに抗悪性腫瘍薬のEhrlichがん細胞に対する作用の形態学的観察

メタデータ	言語: Japanese 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 入江, 宏 メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8782

金沢大学十全医学会雑誌　第88巻　第2・3号　488－497　(1979)

抗腫瘍性溶連菌の有効因子に関する研究

第4報　溶連菌菌体内成分60F並びに抗悪性腫瘍薬のEhrlichがん細胞に対する作用の形態学的観察

金沢大学医学部薬理学教室（主任：正印　達教授）

入　江　　宏

（昭和54年5月18日受付）

Streptolysin S（以下SLSと略記）産生能を有する溶連菌Su株（以下Su菌と略記）に制がん能があることが，越村ら[1]によって実証されて以来，溶連菌の制がんに関する実験的研究が，溶連菌の核酸効果[2]に関する実験と平行しながら行なわれ，やがて制がん活性が強く，SLS産生力を欠く溶連菌製剤OK-432[3]が開発され，OK-432は臨床で用いられるようになった．

OK-432の作用機序としては，宿主介在作用[3)~5)]と腫瘍細胞に対する直接傷害作用[3)~5)]が考えられているが，その原菌であるSu菌については，多くの人によって主に直接傷害作用について実験が行なわれてきた．すなわち，清水ら[6]による腫瘍細胞からのRNA流出についての実験，Havasら[7]及び越村ら[4]による位相差顕微鏡によるSu菌の腫瘍細胞傷害の観察実験，越村ら[8]によるSu菌の固型腫瘍内注射実験，及び倉田，北村ら[9]のRNA及びDNA染色によるSu菌の腫瘍細胞傷害に関する実験などである．これらSu菌の腫瘍細胞直接傷害作用の実験にもとづいて，Su菌の制がん性有効因子についての研究が行なわれ，越村，正印[10]はSu菌の無細胞抽出液に抗腫瘍活性があることを実証し，正印[11]は無細胞抽出液より硫酸アンモニウム濃度別分画沈澱法によって抗腫瘍活性をもつタンパク性分画60Fを分離するに至った．

60F分画については，in vitro-in vivo法実験で数種の可移植性腹水腫瘍細胞の移植性を阻止すること[12]や，60F腹腔内投与によってエールリッヒがん細胞接種マウスに著しい延命効果[11]がみられることが報告されている．また，60Fの可移植性腹水腫瘍細胞に対する作用をin vitroで走査型電子顕微鏡によって観察すると，感受性腫瘍細胞にはOK-432とよく似た形態学的変化がみられるが，Su菌でみられたRNA流出像は認められないこと[13]も報告されている．他方，生化学的実験では，60Fはエールリッヒがん細胞のRNA代謝及びDNA代謝を阻害すること[14]も報告されているが，作用機序としては核酸代謝阻害によるものか，或いは60Fがタンパク性分画であるためのその他の作用によるものかは明らかでない．

タンパク性抗悪性腫瘍薬としてはネオカルチノスタチンがあり，ネオカルチノスタチンは1964年石田ら[15)16)]によって放線菌Streptomyces cartinostaticus F41の培養濾液よりえられた分子量約10,700の酸性ペプチドで，作用機序としては腫瘍細胞膜に作用し，DNA合成を阻害[17)~19)]するとされている．このことから本論文では，60Fのエールリッヒがん細胞に対する形態学的影響をネオカルチノスタチン並びに作用機序の異なる抗悪性腫瘍薬と走査型電子顕微鏡を用いて比較実験し，さらに腫瘍細胞の形態変化と移植性の関係についても検討が行なわれた．

実験材料並びに実験方法

1．60F分画

60F分画は正印[11]の方法によって作製した．すなわち，教室保存の溶連菌Su株（Su菌）の普通ブイヨン培養液600 mlを3％酵母エキス培養液（pH7.2）10 lに接種し，37℃で20時間培養したのち，低温下で連続遠心（11,000rpm. 120 ml/min）を行なってSu菌体を集め，生理的食塩水で2回洗浄したのち，洗浄菌体を冷蒸留水に浮遊させ，更に適量の蒸留水を加えてSu菌浮遊液の濁度が$OD_{660m\mu}$で40になるように調整する．ついで，この菌浮遊液30 mlにガラス粒（ブラ

Studies on the anticancer factor(s) from group A streptococci Part 4 Morphological experiments on the influence of 60F and anticancer drugs upon Ehrlich carcinoma cells

Hiroshi Irie, Department of Pharmacology (Director: Prof. S. Shoin), School of Medicine, Kanazawa Univercity.

ウン社製，径 0.1mm）を 40g 加えてセルホモジナイザー（ブラウン社製）で 4,000rpm 4 分間振とうして Su 菌体を破壊し，振とうされた菌液をガラス濾過器(G2）で濾過したのち，濾液の無細胞抽出液を低温下で遠心（10,000rpm．20 分）し，その上清液に 1/10 量の 20％硫酸ストレプトマイシン水溶液を加えて低温下で放置し，30 分後に 10,000rpm 20 分間遠心して上清液を分取する．この上清液を硫酸アンモニウム飽和水溶液（アンモニア水で pH7.1 に調整）に対して低温下で一昼夜透析を行ない，生じた沈澱物を遠心によって集め，これを蒸留水に溶解したものについて硫酸アンモニウムによる濃度別分画沈澱を行ない，硫酸アンモニウム飽和濃度 50％と 60％の間で生じる沈澱物を集め，蒸留水に溶解して蒸留水に対して透析を行なって脱塩したのち，凍結乾燥を行なって帯黄白色の無晶形粉末標品 60F 分画を用意し，低温下に保存する．

実験には 60F 分画を M/15 燐酸緩衝生理的食塩水（PBS と略記）に溶解して，0.4％溶液を作製し，ミリポアフィルターにて濾過滅菌したものを用いた．

2．抗悪性腫瘍薬

1）シクロホスファミド：エンドキサン（塩野義製薬株式会社）を滅菌 PBSに溶解して20μg/ml，200μg/ml溶液を作製．

2）カルバジルキノン：エスキノン（三共株式会社）を PBS にて稀釈して20μg/ml，200μg/ml溶液を作製．

3）5-フロロウラシル（5-FU）：5-FU（協和醗酵製薬株式会社）を PBS に溶解して20μg/ml，200μg/ml溶液を作製．

4）メソトレキセート：メソトレキセート（武田薬品株式会社）を PBS に稀釈して，20μg/ml，200μg/ml液を作製．

5）マイトマイシン C（MMC）：MMC（協和醗酵製薬株式会社）を PBS に稀釈して20μg/ml，200μg/ml溶液を作製．

6）ネオカルチノスタチン：ネオカルチノスタチン（山之内製薬株式会社，2000U/2 ml ；1mg は 1,500U）を PBS にて稀釈して2μg/ml，20μg/ml液を作製．

7）ブレオマイシン：ブレオマイシン（日本化薬株式会社）を PBS にて稀釈して20μg/ml，200μg/ml溶液を作製．

8）OK-432：ピシバニール（中外製薬株式会社，50KE/vial）を PBS に浮遊させて 5KE/ml，8KE/ml液を作製．

3．エールリッヒがん細胞浮遊液

dd 系マウス（雄，19～21g）にエールリッヒ腹水がん細胞を移植したのち，10 日目に腹水を採取し，遠心（800rpm．5 分）によって沈澱したがん細胞を集め，これを仔牛血清 1％加 PBS にて 2 回洗浄したのち，洗浄がん細胞を仔牛血清 1％加 PBS に浮遊させ，細胞数を Türk 型血球計算板にて算定したのち，適量の仔牛血清 1％加 PBS を加えて 3.5×10^7 細胞／ml の細胞浮遊液を調整する．

4．がん細胞傷害作用に関する実験術式

がん細胞に対する傷害作用を，走査型電子顕微鏡によるがん細胞の形態学的観察と，60F 並びに供試薬物のがん細胞の移植能に及ぼす影響によって検討した．

1）形態学的観察実験術式

がん細胞浮遊液（3.5×10^7 細胞／ml）2 ml に 60F 溶液または供試薬物溶液 2 ml を加えて 37℃ で 120 分間インキュベートしたのちその混合液 0.5 ml を採取して直ちに 2.5％グルタールアルデヒドに加えて室温下で固定し，800rpm 3 分間遠心し，沈澱物を更に 1％オスミウム酸で後固定したのち，再び遠心してえられる沈澱物をエタノールで順次脱水を行ない，ついで酢酸イソアミルに浮遊させてスライドガラス上にのせ，臨界点乾燥器（日立社製，HC-PZ 型）でイオンスパッタリングを行なったのちに，走査型電子顕微鏡試料台に固定し，走査型電子顕微鏡(日立社製 S550及びS450）で観察を行なった．なお，対照としてはがん細胞浮遊液に仔牛血清 1％加 PBS を加えた混合液を上記の如く処置したものが用いられた．

2）エールリッヒがん細胞の移植性に関する実験術式

がん細胞浮遊液 3 ml に 60F 溶液または供試薬物溶液 3 ml を加えて 37℃ に 120 分間インキュベートしたのち，その混合液を一群 10 匹とするマウス腹腔内に 0.5 ml ずつ接種して 50 日間観察し，途中斃死したマウス及び 50 日目に生存したマウスについてそれぞれ剖検を行なってがん細胞浸潤の有無を確かめた．

なお，対照としてはがん細胞浮遊液 3 ml に仔牛血清 1％加 PBS 3 ml を加えて上記の如く処置したものが用いられた．

実　験　成　績

走査型電子顕微鏡による観察実験

抗腫瘍性溶連菌菌体内成分 60F のエールリッヒがん細胞に対する形態学的観察については既に報告されている如く，今回の実験においても写真 2 にみるごとく，対照（写真 1）に比して微絨毛の減少，消失と微絨毛

の先端膨化が著明にみとめられると共に，大小不同の数多くのブレブスの形成がみられ，細胞表面も凹凸状を示したが，細胞膜の破壊像はみとめられなかった．

エスキノンの作用をうけたがん細胞では，写真3にみられるごとく，微絨毛は著明に減少，消失し，また，残存している微絨毛全体に膨化像がみとめられ，ブレブス形成もみられて細胞表面は凹凸状を呈しているが，細胞は比較的球形を保っていた．

エンドキサンの作用をうけたがん細胞では，写真4にみられる如く，時には微絨毛の消失がみとめられるが微絨毛自身の変化はほとんどみとめられなかった．ブレブス形成はみとめられ，細胞表面も若干凹凸状を呈していたが，細胞の変形はみとめられなかった．

5-FUとインキュベートされたがん細胞では，写真5にみられる如く，微絨毛には全く変化がみられず，ブレブス形成及び細胞の変形もみとめられなかった．

メソトレキセートの作用をうけたがん細胞では，写真6にみられる如く，微絨毛の減少と延長ならびに硬化像がみとめられるが，膨化，消失はみとめられず，ブレブス形成，細胞の変形もみとめられなかった．

マイトマイシンCの作用をうけたがん細胞では，写真7にみられる如く，微絨毛の萎縮或いは消失がみられると共にブレブスの形成もみられ，細胞表面は凹凸状を呈した．

ネオカルチノスタチンの作用をうけたがん細胞では写真8にみられる如く，微絨毛は著明に膨化して花弁状を呈し，微絨毛の消失もみとめられるとともに大きなブレブスの形成もみられ，60Fとよく似た形態変化を呈したが，60Fほど細胞の変形はみられず，細胞表面の凹凸状も著明ではなかった．

ブレオマイシンの作用をうけたがん細胞では，写真9にみられる如く，微絨毛は消失してほぼ球形状となるが，細胞表面の凹凸はみとめられなかった．

OK-432の作用をうけたがん細胞では，写真10にみられる如く，60Fによるのとよく似た形態変化がみられ，微絨毛の消失，先端膨化，萎縮像或いは変形がみられ，また，大小不同の数多くのブレブス形成と細胞表面の凹凸状及び細胞の変形がみられたが，細胞膜の破壊的所見はみられなかった．

移植阻止効果に関する実験

In vitro-in vivo法による60F並びに各種抗悪性腫瘍薬のエールリッヒがん細胞の移植阻止効果に関する実験の成績は表1に示されている．すなわち，薬物又は60Fとがん細胞を混じて37℃で120分間インキュベートして，その0.5 mlを1群10匹の各マウス腹腔内に注射して50日目における生存数をパーセントであらわすと，エスキノン（作用濃度10μg/ml），ネオカルチノスタチン（作用濃度1μg/ml），マイトマイシンC（作用濃度10μg/ml），OK-432（作用濃度2.5KE/ml）及び60F（作用濃度1mg/ml）とインキュベートされたがん細胞の移植は阻止され，50日目におけるマウス生存率はそれぞれ100％，100％，50％，30％及び100％であり，50日目に生存したマウスを屠殺解剖した肉眼観察でも腹水の貯溜，がん細胞浸潤像はみとめられなかった．ネオカルチノスタチンでは，作用濃度が10μg/mlと増加すると生存率は70％と低下したが，途中斃死したマウスを解剖しても腹水の貯溜，がん細胞浸潤像はみとめられなかった．エスキノン，マイトマイシンC，OK-432及び60Fでは作用濃度をそれぞれ100μg/ml，100μg/ml，4KE/ml及び2mg/mlと増加しても生存率は100％，60％，90％及び100％

Table 1 Experiments on the ifluence of 60F and various anticancer drugs upon the invasion power of Ehrlich carcinoma cells

Materials	Concentration of the material in the mixture	Number of survivors/test animals on the 50th day of inoculation
60F	1mg/ml	10/10
	2mg/ml	10/10
Cyclophosphamide	10μg/ml	0/10
	100μg/ml	0/10
Carbazilquinone	10μg/ml	10/10
	100μg/ml	10/10
5-fluorouracil	10μg/ml	0/10
	100μg/ml	0/10
Methotrexate	10μg/ml	0/10
	100μg/ml	0/10
Mitomycin C	10μg/ml	5/10
	100μg/ml	6/10
Neocarzinostatin	1μg/ml	10/10
	10μg/ml	7/10
Bleomycin	10μg/ml	0/10
	100μg/ml	0/10
OK-432	2.5KE/ml	3/10
	4 KE/ml	9/10
Control (Carcinoma cells alone)		0/10

A mixture of Ehrlich carcinoma cells suspension and a solution of tested material was incubated at 37℃ for 2 hours. After the incubation, the mixture was injected intraperitoneally into a mouse.

であった．

5FU（作用濃度10μg/ml，100μg/ml），エンドキサン（作用濃度10μg/ml，100μg/ml），メソトレキセート（作用濃度10μg/ml，100μg/ml）及びブレオマイシン（作用濃度10μg/ml，100μg/ml）では移植阻止効果はみとめられず，これら薬物とインキュベートされたがん細胞の腹腔内注射によってマウスは対照群のマウスと同様にことごとく3週間以内に腫瘍死した．

考　　察

抗腫瘍性溶連菌菌体内成分60Fは，60Fに感受性の可移植性腹水腫瘍細胞に対してはその移植性を阻止すると共に，微絨毛に膨化，消失などの変化をおこし，ブレブスを形成して細胞に特異な外観を呈するが，非感受性の腫瘍細胞ではかかる変化がみとめられぬことが走査型電子顕微鏡による観察実験[12]によって明らかにされている．このような形態学的影響が60Fに特有なものであるか否かを明らかにするため，作用機序の異なる各種抗悪性腫瘍薬と60Fとの比較実験が行なわれた．抗悪性腫瘍薬はアルキル化剤としてエンドキサン及びエスキノンが，代謝拮抗剤として5-FUとメソトレキセートが，抗生物質としてネオカルチノスタチンとマイトマイシンCが，その他としてOK-432が用いられたが，その結果，作用機序が異なると形態学的影響も異なることが明らかにされ，これら形態学的変化を比較分類すると，殆んど形態的に変化がみられぬもの，微絨毛が減少もしくは消失するもの，微絨毛に変化がみられるもの，ブレブスの形成がみられるもの，並びに微絨毛の変化とブレブスの形成がみられるものに大別される．これと移植阻止効果とを一括表示すると表2の如くになり，このうち移植阻止効果は微絨毛の変化とブレブスを形成するエスキノン，マイトマイシンC，ネオカルチノスタチン，OK-432および60Fにみとめられている．

他方，60Fの可移植性腹水腫瘍細胞に対する作用の形態学的観察[12]でも，60Fによって移植性が阻止された腫瘍細胞には微絨毛の膨化などの変化とブレブスの形成が共にみられることが報告されている．これらのことから微絨毛と細胞表面の形態学的変化からその薬物の腫瘍細胞の移植性に対する阻止効果の有無について推察することが可能と考えられ，さらに，従来作用機序或いは性状などによって分類されている抗悪性腫瘍薬を，腫瘍細胞に対する形態学的影響によって分類することも可能であることを示唆するものと考えられる．しかし，これらの実験では薬物をin vitroで腫瘍細胞に120分間作用させているので，細胞浮遊液の組成，作用時間，腫瘍細胞の細胞周期，実験系の組み立て方などを考慮する必要があり，また，薬物によってはin vivoで初めて活性化されるものもあることなども考慮して検討すべきと考えられる．

正印ら[13]によって行なわれた60Fのエールリッヒがん細胞に対する作用の形態学的観察実験では，走査型電子顕微鏡によって微絨毛の変化とブレブスの形成がみられ，透過型電子顕微鏡によって細胞質の空胞化及び浮腫状化，マイクロフィラメントの出現，ミトコンドリアの膨化及びクリステの消失，核膜内外での緻密

Table 2 Summarized data of the effects of 60F and anticancer drugs on Ehrlich carcinoma cells

Materials	Morphological effect				Inhibitory effect on the invasion power of carcinoma cells
	Appearance of blebs	Decrease or evanescence of microvilli	Swelling of microvilli	Sclerosis and elongation of microvilli	
60F	+	+	+	−	+
Cyclophosphamide	+	+	−	−	−
Carbazilquinone	+	+	+	−	+
5-fluorouracil	−	−	−	−	−
Methotrexate	−	−	−	+	−
Mitomycin C	+	+	+	−	+
Neocarzinostatin	+	+	+	−	+
Bleomycin	−	+	−	−	−
OK-432	+	+	+	−	+

化，核質の浮腫状化又は空胞化，及びブレブス内には無構造の細胞質がみとめられるが，細胞膜の破壊像はみとめられないことが報告されている．かくて，これまでの所見を総合すると，ブレブスが形成される時には同時に細胞内にもいろいろの変化があることが推察され，ブレブス形成は細胞内異常の結果にもとづくものとも考えられる．従って，ブレブスが形成されている時には細胞内にもいろいろの変化がおこっていて，移植性も阻止されるものと考えられる．微絨毛の変化についての意味は不明であり，さらに研究が必要である．

60F は上記の如く形態学的変化を感受性の可移植性腹水腫瘍細胞におこすものであるが，樋口ら[14]は60F はエールリッヒがん細胞の，RNA 代謝および DNA 代謝を阻害し，代謝阻害効果は 60F 作用後 30 分位からみられることを報告しているが，入江[12]は 60F のエールリッヒがん細胞移植阻止効果は 60F 作用後 20 分からみられること，及び正印ら[13]は 60F のエールリッヒがん細胞に対する形態学的影響は 60F 作用後比較的早くからみられ，15 分から 20 分では著明にみられることを報告している．これらのことから代謝阻害作用，移植阻止作用及び形態学的影響がみられるまでの時間を比較してみると，そこには当然腫瘍細胞を浮遊する浮遊液の組成の問題もあるが，形態学的変化がまずおきていると考えられる．60F と同様タンパクで，形態学的影響も 60F と似ているネオカルチノスタチン[15]は腫瘍細胞内に侵入することなくまず細胞膜に作用し，次で核酸代謝を阻害する[16]~[19]とされていることから，60F もまず腫瘍細胞表面に作用してその結果形態学的変化をおこし，ついで移植阻止作用と核酸代謝阻害作用を呈すると考えられる．しかし，移植阻止作用と核酸代謝阻害作用については，in vitro で核酸代謝を阻害された腫瘍細胞がマウスの腹腔内に接種されるのであるから，移植阻止作用は核酸代謝阻害作用によるのか，或いは形態学的に障害されたこと又はその他の理由によるのかは更に検討すべきと考えられる．

60F 分画は電気泳動法などによって単一物質ではなく，また同分画には溶血活性[11]がみとめられることから，60F 分画の精製が必要であり，また 60F の抗腫瘍効果と溶血活性との関係についても更に実験が必要である．

結　　論

抗腫瘍性溶連菌菌体内成分 60F 並びに各種抗悪性腫瘍薬のエールリッヒがん細胞に対する in vitro での作用を走査型電子顕微鏡による形態学的観察実験と移植阻止実験によって検討して，次の如き成績と結論がえられた．すなわち，

1．60F 並びに各種抗悪性腫瘍薬のエールリッヒがん細胞に対する形態学的影響はそれぞれ異なっていたが，

2．移植阻止効果は微絨毛に膨化などの変化をおこし，ブレブスを形成する 60F 並びに抗悪性腫瘍薬にみとめられた．

3．60F によるエールリッヒがん細胞の形態学的変化はネオカルチノスタチン及び OK-432 によるものとよく似ていた．

稿を終るに臨み，本研究に終始御懇篤なる御指導と御校閲を賜った恩師正印　達教授に深甚なる謝意を捧げます．また多大な御助力と御援助を賜った国立病院医療センター病理，大網弘博士，山本悦子技師，中外製薬総合研究所，菅原豊，斉藤元男両氏，日立那珂電子顕微鏡工場，和田正夫技師に深く謝意を表します．

文　　献

1) **Koshimura, S., Murasawa, K., Nakagawa, E., Ueda, M., Bando, Y. & Hirata, R.** : Experimental anticancer studies. PartⅢ. On the influence of living hemolytic streptococci upon the invasion power of Ehrlich ascites carcinoma in mice. Japan. J. Exp. Med., **25**, 93－102 (1955).

2) **Okamoto, H.** : Uber die hochgradige Steigerung des Hämolysinbildungsvermögen des Streptococcus haemolyticus durch Nukleinsäure, I. Mitt. Japan. J. Med, Sci., Ⅳ. Pharmacology, **12**, 167－208 (1940).

3) **Sakurai, Y., Tsukagoshi, S., Satoh, H., Akiba, T., Suzuki, S. & Takagaki, Y.** : Tumor-inhibiting effect of a streptococcal preparation (NSC-B116209). Cancer Chemother. Rep., Part 1, **56**, 9－17 (1972).

4) **Okamoto, H.** : Antitumor activity of streptolysin S-forming streptococci, p237－257. In A. W. Bernheimer (ed.), Mechanisms in Bacterial Toxinology, 1st ed. John Wiley & Sons, Inc., America, 1976.

5) **Okamoto, H., Shoin, S. & Koshimura, S.** : Streptolysin S-forming and antitumour activities of group A streptococci, p259－289. In J. Jeljasewicz & T. Wadström (ed.), Bacterial Toxins and Cell Membranes, 1st ed. Academic

Press, London (1978).

6) 清水隆作・西田信義・坂東 勲・越村三郎：制癌に関する実験的研究，第22報，癌細胞と溶連菌の接触メジウムにおける癌細胞RNAの出現について．金大結研年報，**22**, 27 − 34 (1967).

7) **Havas, H. F., Donnely, A. J. & Porreca, A. V.** : The cytotoxic effects of hemolytic streptococci on ascites tumor cells. Cancer Res., **23**, 700 − 706 (1963).

8) **Koshimura, S., Shimizu, R., Bando, Y., Hirata, R. & Shoin, S.** : Experimental anticancer studies Part 12. On the destructive effect of living hemolytic streptococci on solid tumor of Ehrlich carcinoma in mice. Japan. J. Microbiol., 4, 19 − 24 (1960).

9) **Kurata, Y., & Kitamura, M.** : The Influence of hemolytic streptococci on the basophilia of ascites tumor cells. Gann. **52**, 121 − 125 (1961).

10) **Koshimura, S., Hirata, R. & Shoin, S.** : On the streptolysin S. synthetizing and anticancer activities of cell-free extract from living hemolytic streptococci. Cancer Chemother. Rep., 13, 107 − 111 (1961).

11) **Shoin, S.** : Isolation and fractionation of cell-free extract from streptolysin S-forming streptococci. Gann, **67**, 661 − 667 (1976).

12) 入江 宏：抗腫瘍性溶連菌の有効因子に関する研究，第3報，溶連菌菌体内成分60Fの可移植性腹水腫瘍細胞に対する作用の形態学的観察．十全医学会誌，**87**, 609 − 618 (1978).

13) 正印 達・樋口善博・瀬戸慶一・中村 忍・五島亜男・広根孝衛：溶連菌抗腫瘍性画分60Fの腫瘍細胞障害作用に関する形態学的観察．日本癌学会総会記事．第35回総会，137頁 (1976).

14) 樋口善博・木越 茂・正印 達：溶連菌抗腫瘍性画分60Fの腫瘍細胞障害作用−特に^{51}Crの遊離作用について．日本癌学会総会記事，第36回総会，151頁 (1977).

15) **Ishida, N., Kumagai, K., Miyazaki, K., & Rikimaru, M.** : Neocarzinostatin, an antitumor antibiotic of high molecularweight, isolation, physicochemical properties and biological activities. J. Antibiotics, Ser. A, **16**, 68 − 76 (1965).

16) 松本重宏・菊地幹雄・石田名香雄：ネオカルチノスタチン（NCS）のマウス腹水腫瘍細胞MH 129Pに対する細胞学的効果．Chemotherapy, **22**, 1124 − 1125 (1974).

17) 西川泰右：Neocarzinostatinの Sarcoma 180細胞及びHela細胞に対する作用の細胞学的検討．弘前医学，**17**, 421 − 434 (1965).

18) 佐竹正延・海老名卓三郎・石田名香雄：制癌性抗生物質ネオカルチノスタチンの作用機作−膜，微小管への作用（第4報）．日本癌学会総会記事，第37回総会，162頁 (1978).

19) 井関尚一・海老名卓三郎・石田名香雄：制癌性抗生物質ネオカルチノスタチンの作用機作−膜．微小管への作用（第5報），Beige Mouseにおける PC形成阻害抵抗性．日本癌学会総会記事，第37回総会，136頁 (1978).

写 真 説 明

写真1．未処置エールリッヒがん細胞

写真2．60F（作用濃度1mg/ml）と2時間インキュベートされたエールリッヒがん細胞．

写真3．エスキノン（作用濃度10μg/ml）と2時間インキュベートされたエールリッヒがん細胞

写真4．エンドキサン（作用濃度100μg/ml）と2時間インキュベートされたエールリッヒがん細胞

写真5．5-FU（作用濃度100μg/ml）と2時間インキュベートされたエールリッヒがん細胞

写真6．メソトレキセート（作用濃度100μg/ml）と2時間インキュベートされたエールリッヒがん細胞

写真7．マイトマイシンC（作用濃度100μg/ml）と2時間インキュベートされたエールリッヒがん細胞

写真8．ネオカルチノスタチン（作用濃度1μg/ml）と2時間インキュベートされたエールリッヒがん細胞

写真9．ブレオマイシン（作用濃度10μg/ml）と2時間インキュベートされたエールリッヒがん細胞

写真10．OK-432（作用濃度4KE/ml）と2時間インキュベートされたエールリッヒがん細胞

Studies on the anticancer factor(s) from group A streptococci Part 4 Morphological experiments on the influence of 60F and anticancer drugs upon Ehrlich carcinoma cells. Hiroshi Irie, Department of Pharmacology, School of Medicine, Kanazawa University, Kanazawa, 920, Japan. J. Juzen Med. Soc., 88, 488–497 (1979).

Abstract Since it was demonstrated that 60F isolated from the cell-free extract of hemolytic streptococci Su strain caused the changes such as the decrease or the swelling of microvilli and the appearance of abnormal blebs in transplantable ascites tumor cells and inhibited the invasiveness of tumor cells into experimental animals, the morphological and inhibitory effects of 60F on Ehrlich carcinoma cells were compared with those of 8 anticancer drugs.

A mixture of Ehrlich carcinoma cells suspension and the solution of anticancer drug or 60F was incubated at 37°C for 2 hours. After the incubation, a part of the mixture was used to make the preparation for the scanning electron microscope test and the rest of the mixture was used to inject intraperitoneally into a mouse to examine the invasion power of carcinoma cells. The results obtained were as follows;

1. Each of anticancer drugs and 60F had a morphological effect on Ehrlich carcinoma cells. According to the changes in the morphology of carcinoma cells, anticancer drugs were classified into the following five groups.

Group 1 5-fluorouracil The drug of this group did not cause any change in microvilli and the appearance of blebs.

Group 2 Cyclophosphamide The drug of this group caused the decrease of microvilli and the appearance of abnormal blebs.

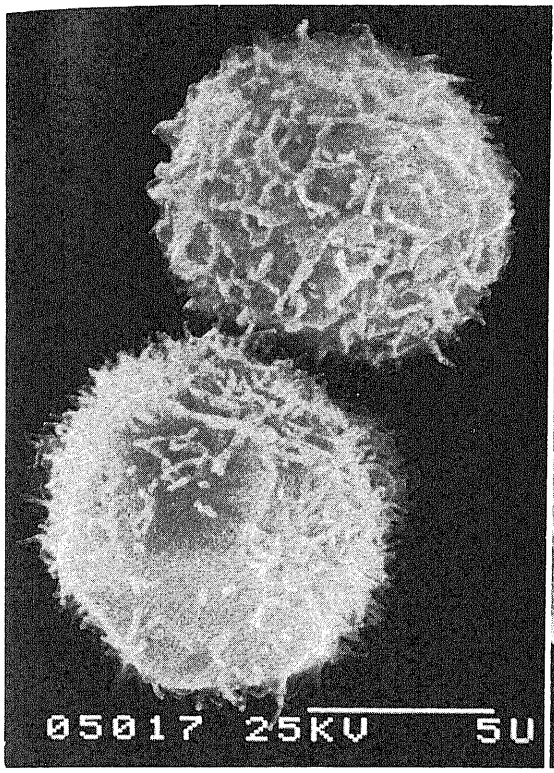
Group 3 Methotrexate The drug of this group caused the sclerosis and the elongation of microvilli.

Group 4 Bleomycin The drug of this group caused the evanescence of microvilli.

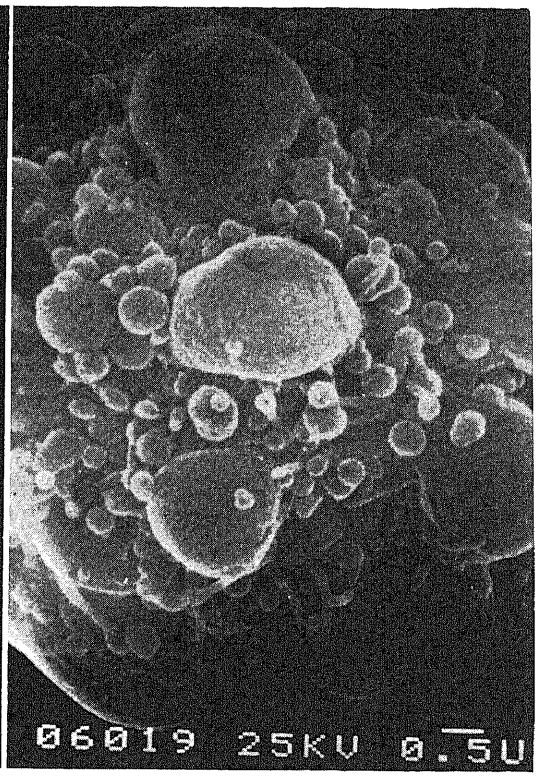
Group 5 Carbazilquinone, Mitomycin C, Neocarzinostatin, OK-432 and 60F The drug of this group caused the decrease and swelling of microvilli and the appearance of abnormal blebs.

2. The inhibitory effect on the invasiveness of Ehrlich carcinoma cells was exhibited by Carbazilquinone, Mitomycin C, Neocarzinostatin, OK-432 and 60F all of which belong to Group 5.

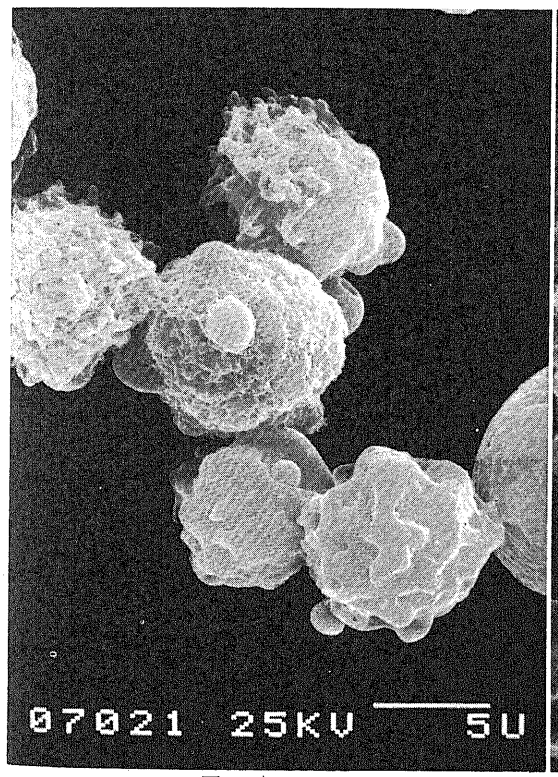
3. The morphological effect of 60F was quite similar to that of Neocarzinostatin and OK-432.



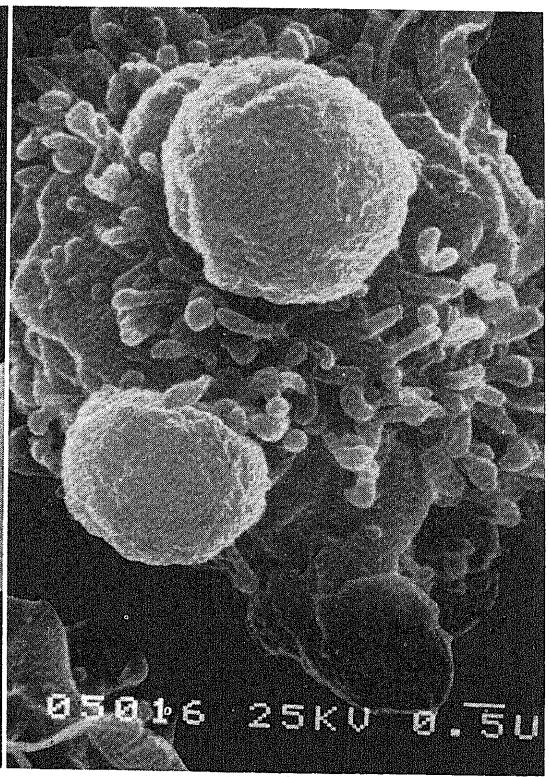
写　真　1



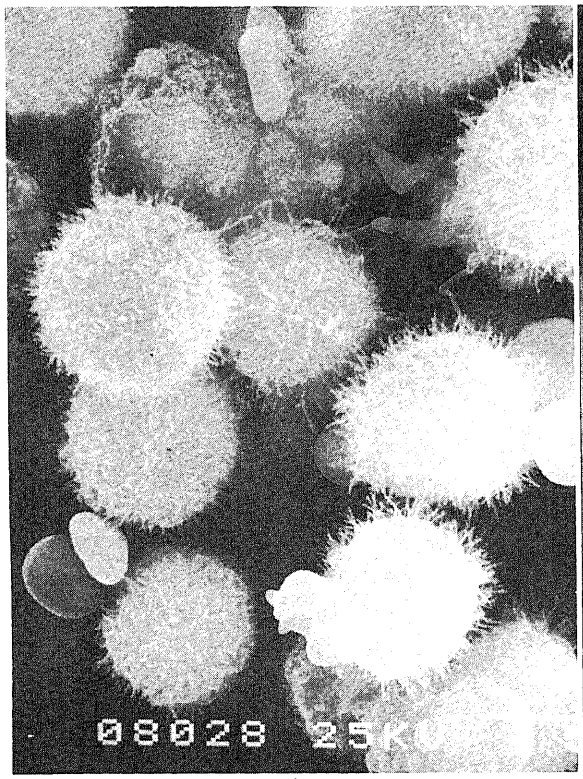
写　真　2



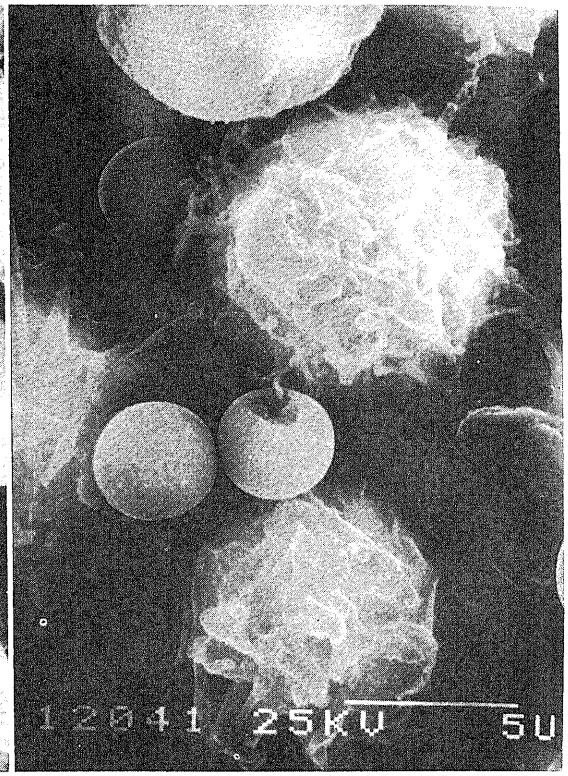
写　真　3



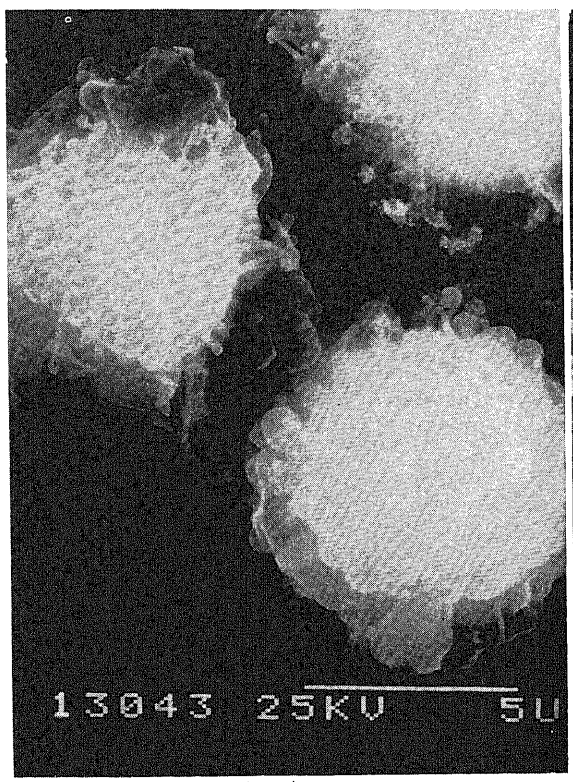
写　真　4



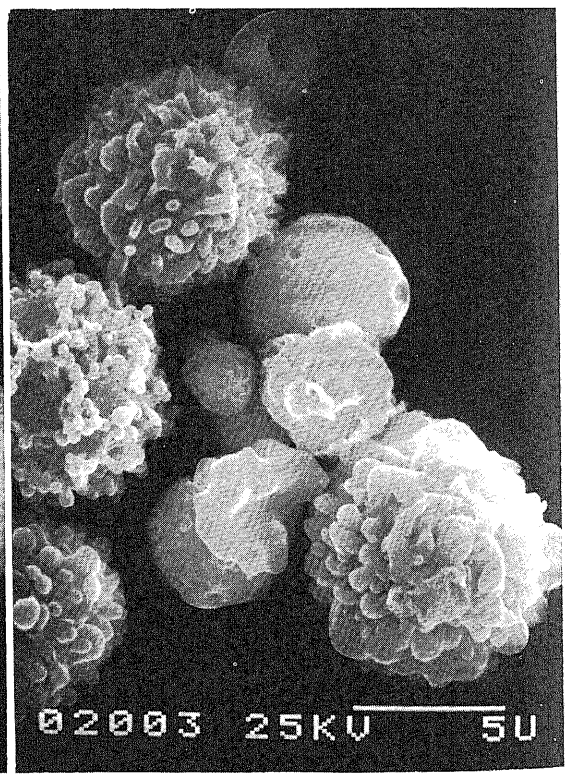
写 真 5



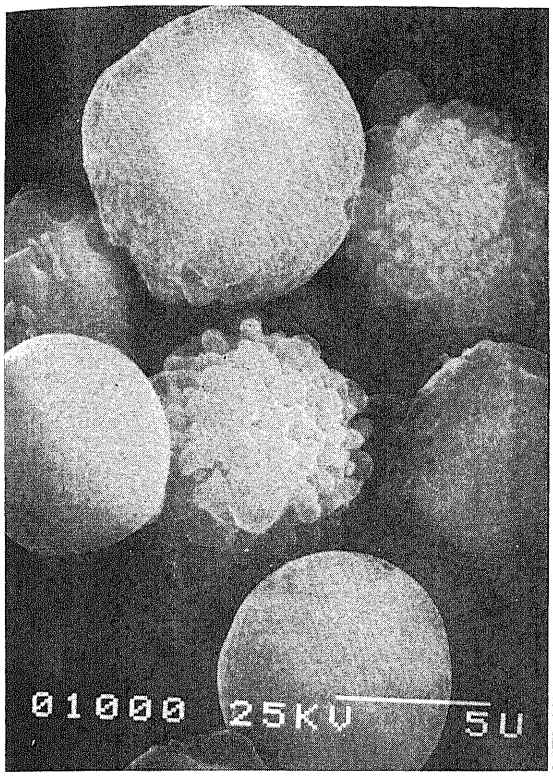
写 真 6



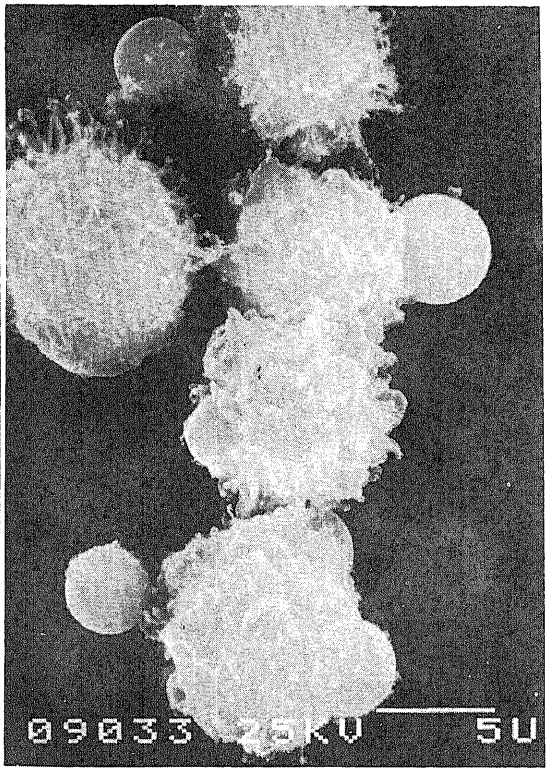
写 真 7



写 真 8



写　真　9



写　真　10