

抗腫瘍性溶連菌の有効因子に関する研究-3-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

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2017-10-04 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: メールアドレス: 所属:
URL	http://hdl.handle.net/2297/8740

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

金沢大学医学部薬理学教室(主任: 正印 達教授)

入 江 宏

(昭和53年9月29日受付)

核酸効果¹⁾の研究に端を発して行なわれた制癌に関する実験的研究で, Streptolysin S (SLS) 産生能を有する溶連菌に制癌活性があることが越村ら²⁾によって実験的に証明されて以来, 数多くの研究が核酸効果の研究と平行しながら行なわれてきた。その結果, 溶連菌 Su 株 (Su 菌と略記) を Bernheimer's Basal Medium³⁾ に浮遊させ, これにペニシリン G を加えて処理することで制癌活性は増強し, 菌毒力 (Virulence), 菌増殖力並びに SLS 産出力が著しく減弱した制癌性溶連菌製剤 OK-431⁴⁾ が開発され, やがて OK-431 を凍結乾燥などの処理を行なうことで制癌活性は安定し, SLS 産出力並びに菌増殖力を欠き, 菌毒力も殆んど消失した OK-432⁵⁾ がつくられるに及んで, OK-432 は制癌剤として使用されるに至り, 多くの研究が発表されるに至った。

Su 菌の制癌効果はエールリッヒ癌細胞, Sarcoma 180 細胞など多くの悪性腫瘍細胞に対してみとめられ⁶⁾⁷⁾, その作用機序については, 越村ら⁸⁾, 清水ら⁹⁾, Havas¹⁰⁾, 小野ら¹¹⁾及び二木¹²⁾らによって形態学的観察或いは生化学的な実験が行なわれ, その結果 Su 菌, OK-431 並びに OK-432 には癌細胞に対する直接傷害作用と, 桜井ら⁵⁾によって示された OK-431 並びに OK-432 の宿主を介する宿主介存作用の2つの作用があることが明らかにされ, 宿主介存作用については多くの研究が発表されている⁷⁾。直接傷害作用についてはその後越村ら¹³⁾, 並びに正印¹⁴⁾によって, Su 菌生菌体内に制癌性因子のあることが実証され, 最近, 正印¹⁵⁾によって Su 菌の無細胞抽出液から硫酸アンモニウムによる分画沈澱法によって制癌活性をもつタンパク性画分 60F が分離され, 60F はウリジン, チミジン及

びロイシンの取り込みを阻害し¹⁶⁾, 形態学的にもエールリッヒ癌細胞に対し著しい変化を惹起することが報告¹⁷⁾された。しかしこれらの 60F に関する実験はエールリッヒ癌細胞についてのみ行なわれたものであり, また 60F の原菌である Su 菌は広い抗腫瘍スペクトルをもつこと⁶⁾⁷⁾などから, 本論文ではエールリッヒ癌細胞以外の移植性腫瘍細胞に対する 60F の作用を走査型電子顕微鏡によって観察すると共に腫瘍細胞の移植性に対する影響についても実験が行なわれた。

実験材料並びに実験方法

1. 60F 分画は正印の方法¹⁵⁾によって作製した。すなわち教室保存の溶連菌 Su 株 (Su 菌と略記) の普通肉汁ブイヨン培養液 600 ml を 3% 酵母エキス培養液⁵⁾ (pH7.2) 10l に接種し, 37°C 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_{660nm} で 40 になる様に調整する。ついでこの菌浮遊液 30 ml にガラス粒 (ブラウン社製, 径 0.1mm) を 40g の率に加えてセルホジナイザー (ブラウン社製) で 4,000rpm 4 分間振とうして Su 菌体を破壊し, ついで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更に低温下で遠心 (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 (硫酸ストレプトマイシン処理無細胞抽出液) 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

Studies on the anticancer factor(s) from group A streptococci Part 3 Morphological experiments on the influence of anticancer factor 60F upon the transplantable ascites tumor cells. Hiroshi Irie, Department of Pharmacology (Director: Prof. S. Shoin), School of Medicine, Kanazawa University.

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、再び蒸留水に溶解してこれ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の50%と60%の間で生じる沈澱物を集め、これを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の粉末標品60F画分を用意し、低温下に保存する。実験には60F画分をM/15 磷酸緩衝生理食塩水(PBSと略記)(pH7.2)に溶解して0.4%の溶液を作製し、ミリポアフィルターにて濾過滅菌をしたものを原液とし、これを更に希釈した0.2%及び0.1%溶液を実験に用いた。

2. OK-432 菌浮遊液, OK-432 (ピシバニール, 中外製薬) 50KE (1KEは乾燥 Su 菌体 0.1mg に相当) に 12.5 ml の蒸留水を加えて OK-432 菌体浮遊液 (4KE/ml) を調製する。

3. 腫瘍細胞並びに実験動物

1) エールリッヒ腹水癌細胞, dd 系マウス(雄, 19~21g) にエールリッヒ腹水癌細胞を移植したのち 10 日目に腹水を採取し、遠心(800rpm, 5分)によって沈澱した癌細胞を集め、これを仔牛血清 1%加 PBS にて 2 回洗浄したのち、洗浄癌細胞を仔牛血清 1%加 PBS に浮遊させ、細胞数を Turk 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。

2) Sarcoma 180 細胞, dd 系マウス腹腔内に、Sarcoma 180 細胞を移植したのち 10 日目に腹水を採取して上記の処置を行なって細胞浮遊液を作製する。

3) L1210 白血病細胞, BDF₁ マウスの腹腔内に L1210 白血病細胞を移植して 5 日目に腹水を採取して細胞浮遊液を作製する。

4) 吉田肉腫細胞, ドンリュウラットに吉田肉腫細胞を移植して 7 日目に腹水を採取し、上記の如くに細胞浮遊液を作製する。

5) AH-13 肝癌細胞, ドンリュウラットに、AH-13 肝癌細胞を移植し 7 日目に腹水を採取して細胞浮遊液を作製する。

4. 腫瘍細胞傷害作用に関する実験

腫瘍細胞に対する傷害作用は、走査型電子顕微鏡による腫瘍細胞の形態学的観察と 60F の腫瘍細胞の移植能に及ぼす影響を *in vitro-in vivo* 法によって検討した。

1) 形態学的観察実験術式

既述のようにして作られた各種腫瘍細胞浮遊液 (3.5×10^7 細胞/ml) 5 ml に 0.2% 60F 溶液 5 ml を加えて 37°C にインキュベートし、一定時間ごとにその混合液を 0.5 ml 採取して直ちに 2.5% グルタ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、再び遠心し沈澱物をエタノールで順次脱水を行ない、ついで錯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)で乾燥を行なってから蒸着器(日立社製 IB-1 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用試料台に固定し、走査型電子顕微鏡(日立社製 S550 及び S450)で観察を行なった。なお対照としては腫瘍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に処置したものが用いられた。

エールリッヒ癌細胞浮遊液 5 ml と OK-432 菌浮遊液 5 ml の混合液を 37°C で 2 時間インキュベートしたのものについても上記の如く処置して走査型電子顕微鏡用試料を作製した。

2) 腫瘍細胞の移植性に関する実験術式

in vitro-in vivo 法によって 60F のエールリッヒ癌細胞に対する作用時間と移植能との関係についての実験と 60F の各種腫瘍細胞の移植能に及ぼす影響についての実験を行なった。

a) 60F の作用時間とエールリッヒ癌細胞の移植性に関する実験術式

エールリッヒ癌細胞浮遊液 12 ml に 0.2% 60F 溶液 12 ml を加えて 37°C にインキュベートし 0 分, 10 分, 20 分, 30 分, 60 分後に混合液をそれぞれ 4 ml づつ分取し、直ちにマウスの腹腔内に 0.5 ml 宛接種して 50 日間マウスの生死を観察する。観察期間中に斃死したマウスについては剖検を行なってその死因を確かめ、50 日目に生存したマウスについても、50 日目に屠殺して癌浸潤の有無を調べた。

b) 各種腫瘍細胞の移植能に及ぼす 60F の影響に関する実験術式

各種腫瘍細胞のそれぞれの細胞浮遊液 2 ml に各種濃度の 60F 2 ml を加えて 37°C に 60 分間インキュベートしたのち、その混合液を一群 5 匹とするそれぞれの腫瘍細胞に対応する実験動物の腹腔内に 0.5 ml づつ接種して 30 日間生死を観察し、途中斃死した動物及び 30 日目に生存した動物についてそれぞれ剖検を行ない腫瘍細胞浸潤の有無を確かめた。なお対照としては腫瘍細胞浮遊液 2 ml に仔牛血清 1%加

PBS 2 mlを加えて、37°Cで1時間インキュベートした混合液 0.5 mlを接種した実験動物群が用いられた。

実験成績

抗腫瘍性溶連菌菌体内成分 60F のエールリッヒ癌細胞に対する形態学的観察は、己に正印¹⁷⁾によって報告されているが、今回の実験においても同様な所見がみられた。すなわち 60F の作用濃度が 1mg/ml では作用後 15 分位から癌細胞の微絨毛に変化がみられ(写真 2)、2 時間後には対照のエールリッヒ癌細胞(写真 1)に比して、写真 3 に示されるような微絨毛の著明な減少又は消失及び微絨毛先端の膨化と共に大小不同の多くのプレブスの形成がみられた。

同様な所見は OK-432 によっても観察され(写真 4)、OK-432 では著明な細胞の変形もみられたが、60F によっても又 OK-432 によっても細胞膜の破壊や細胞質の流出を示すような所見は認められず、エールリッヒ癌細胞は球状の形を保っていた。

Sarcoma 180 細胞においても同様な所見がみとめられ、2 時間後には写真 6 にみられるような微絨毛の膨化並びにプレブスの形成がみられ、はなはだしい時には写真 7 に示すような微絨毛が全く消失し変形した細胞もみられたが、微絨毛先端の膨化はエールリッヒ癌細胞ほど著明にはみとめられなかった。Sarcoma 180 細胞においても細胞の形は依然保たれており細胞膜の破壊像はみとめられなかった。

L1210 白血病細胞でも写真 9 にみられるような微絨毛の減少、プレブスの出現などの変化がみとめられたが、その数はエールリッヒ癌細胞ほど多くはなく、微絨毛自体にも殆んど変化はみとめられなかった。又 L1210 白血病細胞も球形状が保たれていた。

吉田肉腫細胞においても 60F によって著しい変化をうけ、写真 11 にみられるように微絨毛は全く消失し、ところどころにプレブスの形成がみられるほか、細胞表面は粗雑となり凹凸がみとめられたが、細胞は以然として球形を保っていた。

AH-13 肝癌細胞においても写真 13 にみられるように微絨毛に若干の変化がみとめられたが、エールリッヒ癌細胞や Sarcoma 180 細胞ほどではなく、また微絨毛の減少やプレブスの形成はほとんどみられず、変化は一般に軽微であり、球形をたもっていた。なおこの時混在していた赤血球は 60F によって形態学的には何らの変化もうけていないこともみとめられた。

60F のエールリッヒ腹水癌細胞の移植性に対する実験で、60F の作用時間による影響の成績は表 1 に示

されている。すなわち 60F と 37°C で 0 分、10 分間インキュベートされたエールリッヒ癌細胞をマウス腹腔内に接種すると、マウスは 3 週間以内にことごとく腫瘍死したが、20 分間、30 分間または 60 分間 60F とインキュベートされた癌細胞を接種されたマウスは 50 日間の観察期間内で斃死するものはなく、1 群 5 匹のマウスは全て 50 日目にも生存し、50 日目における剖検においても腫瘍浸潤はみとめられなかった。

60F の各種腫瘍細胞の移植能に対する影響についての実験成績は表 2 に示されている如く、実験に用いられた 5 種類の悪性腫瘍細胞のうち、エールリッヒ癌細胞、Sarcoma 180 細胞、吉田肉腫細胞並びに AH-13 肝癌細胞の移植性は 60F によって阻止された。このうち最も強い阻止効果はエールリッヒ癌細胞にみとめられ、60F の作用濃度が 0.5mg/ml でもエールリッヒ癌細胞の移植性は完全に阻止され、一群 5 匹のマウスは全て 30 日を経ても健常に生存した。ついで 60F の移植能阻止効果は吉田肉腫細胞、Sarcoma 180 細胞及び AH-13 肝癌細胞の順にみとめられた。これに対して L1210 白血病細胞の移植性は 60F によって阻止されず、作用濃度が 1mg/ml であっても 1 群 5 匹のマウスはすべて対照群のマウスと同じく移植後 10 日以内にことごとく腫瘍死した。

考 察

抗腫瘍性溶連菌 Su 株及びこれより開発された制癌剤 OK-432 は広い抗腫瘍スペクトル¹⁷⁾をもち、その抗腫瘍効果も腫瘍細胞に対する直接傷害作用と宿主を介する宿主介在作用によることが明らかにされている。直

Table 1. Experiments on the invasiveness of Ehrlich carcinoma cells treated with 60F for a different period of time

Time of incubation (minutes)	Number of survivors/test animals on the 50th day of inoculation
0	0/5
10	0/5
20	5/5
30	5/5
60	5/5

A mixture of 60F and Ehrlich carcinoma cells was incubated at 37°C for stated period of time. After the incubation, a incubated mixture was injected intraperitoneally in experimental animals.

接傷害作用に関する研究ではSu菌の無細胞抽出液から制癌活性をもつタンパク画分60Fが分離され、エールリッヒ癌細胞に対して *in vitro* で直接傷害作用を示すことが形態学的観察¹⁷⁾並びに生化学的実験¹⁶⁾¹⁸⁾によって確かめられ発表されているが、エールリッヒ癌細胞以外の腫瘍細胞に対する作用についてはまだ検討されていなかった。本論文ではエールリッヒ癌細胞以外の4種類の腫瘍細胞に対する作用を走査型電子顕微鏡による形態学的観察と移植能に対する影響の面から検討が行なわれたのであるが、その結果、60Fは *in vitro* でSarcoma 180細胞、吉田肉腫細胞及びAH-13肝癌細胞に対し形態学的に細胞表面に変化をおこし、*in vitro-in vivo* 法で移植性を阻止するが、L1210白血病細胞に対してはその移植性を阻止しないことが明らかにされ、60Fの原菌であるSu菌の抗腫瘍スペクトルとほぼ一致する成績がえられた。60Fにより移植性が阻止されたSarcoma 180細胞、吉田肉腫細胞及びAH-13肝癌細胞の3種類の腫瘍細胞では、エールリッヒ癌細胞と同様に何れも細胞表面上に形態学的変化

がみられ、プレブスの出現、微絨毛の減少、消失及び細胞表面の変化が著明にみとめられた。3種類の実験腫瘍細胞特にSarcoma 180細胞と吉田肉腫細胞では、エールリッヒ癌細胞と共通してみられた変化は表3にまとめられている如く、微絨毛自身の変化であり、その先端の膨化や変形がみられた。これに対して移植性が阻止されなかったL1210白血病細胞には軽度の微絨毛の減少、プレブスの出現はみとめられるが微絨毛自身についての変化はみられなかった。また、エールリッヒ癌細胞に対する60Fの作用時間での実験からも、微絨毛における変化が60Fをエールリッヒ癌細胞に作用させてから20分から30分で変化があらわれはじめ、移植性も作用時間が20分から阻止されることなどから、微絨毛形態学的変化と60Fの移植阻止効果の間には何らかの相関性があることが示唆された。

他方、樋口¹⁶⁾はエールリッヒ癌細胞では60Fの作用によって³H-チミジン、³H-ウリジン並びに³H-ロイシンの取りこみが抑制され、抑制効果は60F作用後30分位からあらわれ、⁵¹Crの取り込みも60Fによ

Table 2. Experiments on the influence of 60F upon the invasion power of various transplantable ascites tumor cells

Concentration of 60F in the mixture (mg/ml)	Number of survivors/test animals on the 30th day of inoculation				
	Sarcoma 180 cells	L1210 leukemic cells	Ehrlich carcinoma cells	Ascites hepatoma cells	Yoshida sarcoma cells
1	4/5	0/5	5/5	3/5	3/5
0.5	3/5	0/5	5/5	3/5	4/5
Control (Tumor cells alone)	0/5	0/5	0/5	0/5	0/5

A mixture of tumor cells and 60F was incubated at 37°C for 60 minutes and the incubated mixture was injected intraperitoneally in experimental animals.

Table 3. Summarized data of the effects of 60F on various transplantable ascites tumor cells

Tumor cells	Morphological effect			Inhibitory effect on the invasion power
	Appearance of blebs	Decrease or Evanescence of microvilli	Swelling of microvilli	
Sarcom 180 cells	+	+	+	+
L1210 leukemic cells	+	+	-	-
Ehrlich carcinoma cells	+	+	+	+
Ascites hepatoma cells	-	-	+	+
Yoshida sarcoma cells	+	+	+	+

て抑制される¹⁶⁾が、その効果は60F作用後2時間位からみとめられることと、エールリッヒ癌細胞からのRNA流出が60F作用後12時間から24時間位からみられることを報告している。別に透過型電子顕微鏡による観察¹⁷⁾では、60F作用後60分でエールリッヒ癌細胞内では細胞質の浮腫状化、ミトコンドリアの膨化及びクリステの消失、核膜内外での緻密化、核質の浮腫状又は空泡化などの所見がみられるとも報告されているが、これらを総合すると、60Fに感受性の腫瘍細胞ではまず細胞膜上に作用すると同時に或いは二次的に核酸代謝系を阻害し、細胞内における形態学的変化を惹起すると共に移植性を阻害すると考えられる。これらの形態学的観察は、Su菌、OK-431並びにOK-432によっても同じような所見がみられるが、Su菌では清水ら⁹⁾によって示されているごとく、60Fではみられなかった腫瘍細胞からのRNAの流出が30分後からおこりはじめ、60分後から急激に流出することが報告されていることから、Su菌の直接傷害作用には幾つかの要素があり、60Fはその中の一つであると考えられる。また60Fは単一物質ではなく、いくつかの物質の混合物でこの中には溶血性物質も含まれていることから更に精製されるべきものと考えられる。

結 論

抗腫瘍性溶連菌Su株の菌体内成分60Fについては、従来エールリッヒ癌細胞を用いて抗腫瘍実験が行なわれ、抗腫瘍効果を示すことが報告されてきたが、本論文では走査型電子顕微鏡による形態学的観察並びに移植能に対する実験から、60Fはエールリッヒ癌細胞のほかSarcoma 180細胞、吉田肉腫細胞及びAH-13肝癌細胞に対しても抗腫瘍効果をしめし、L1210白血病細胞には抗腫瘍効果を示さず溶連菌Su株と類似した抗腫瘍スペクトルをもつことが明らかにされた。又腫瘍細胞の移植性と形態学的変化との関係についても考察が行なわれた。

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。さらに多大な御協力をいただい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、斎藤元男両氏、日立那阿電子顕微鏡工場、和田正夫技師に深く謝意を表します。

文 献

1) Okamoto, H., : Japan. J. Med. Sci., IV Pharmacology, 12, 167 (1940).

- 2) Koshimura, S., Murasawa, K., Nakagawa, E., Ueda, M., Bando, Y., & Hirata, R. : Japan. J. Exp. Med., 25, 93 (1955).
- 3) Bernheimer, A. W. : J. Exp. Med., 90, 373 (1949).
- 4) Okamoto, H., Shoin, S., Koshimura, S., & Shimizu, R. : Japan. J. Microbiol., 11, 323 (1967).
- 5) Sakurai, Y., Tsukagoshi, S., Satoh, H., Akiba, T., Suzuki, S., & Takagaki, Y. : Cancer Chemother. Rep., 56, 9 (1972).
- 6) 林 俊夫 : 金大結研年報, 23, 179 (1966).
- 7) Okamoto, H., Shoin, S., & Koshimura, S. : "Bacterial Toxins and Cell Membranes" ed. by J. Jeljasewicz & T. Wadström, 1st ed., p.259 Academic Press, London (1978).
- 8) Koshimura, S., Shimizu, R., Bando, Y., Hirata, R., & Shoin, S. : Japan. J. Microbiol., 4, 19 (1960).
- 9) 清水隆作・西田信義・坂東 勲・越村三郎 : 金大結研年報, 22, 27 (1967).
- 10) Havas, H. F., Donnelly, A. J., & Porreca, A. V. : Cancer Res., 23, 700 (1963).
- 11) Ono, T., Kurata, S., Wakabayashi, K., Sugwara, Y., Saito, M., & Ogawa, H. : Gann, 64, 59 (1973).
- 12) 二木力夫・高垣善男 : 日本癌学会総会記事第31回総会, 119頁 (1972).
- 13) Koshimura, S., & Shoin, S., : Gann, 51, 309 (1960).
- 14) 正印 達 : 日本癌学会総会記事, 第28回総会, 227頁 (1969).
- 15) Shoin, S., : Gann, 67, 661 (1976).
- 16) 樋口善博・木越 茂・正印 達 : 日本薬理学会総会記事, 第51回日本薬理学会, 203頁(1978).
- 17) 正印 達・樋口善博・瀬戸慶一・中村 忍・五島亜男・広根孝衛 : 日本癌学会総会記事, 第35回総会, 137頁 (1976).
- 18) 樋口善博・木越 茂・正印 達 : 日本癌学会総会記事, 第36回総会, 151頁 (1977).

写 真 説 明

写真1. 未処置エールリッヒ癌細胞

写真2. 60Fと15分間インキュベートされたエールリッヒ癌細胞

写真3. 60Fと2時間インキュベートされたエールリ

リッヒ癌細胞
 写真4. OK-432と2時間インキュベートされたエール
 リッヒ癌細胞
 写真5. 未処置 Sarcoma 180 細胞
 写真6. 60F と2時間インキュベートされた Sarcoma
 180 細胞
 写真7. 60F と2時間インキュベートされた Sarcoma
 180 細胞
 写真8. 未処置 L1210 白血病細胞

写真9. 60F と2時間インキュベートされたL1210白
 血病細胞
 写真10. 未処置吉田肉腫細胞
 写真11. 60F と2時間インキュベートされた吉田肉
 腫細胞
 写真12. 未処置 AH-13 肝癌細胞
 写真13. 60F と2時間インキュベートされた AH-
 13 肝癌細胞

A b s t r a c t

It was demonstrated that 60F isolated from cell-free extract of anticancer hemolytic streptococci Su strain possessed the anticancer activity against Ehrlich carcinoma cells in the *in vitro-in vivo* assay system and in the *in vivo* assay system. As a continuation of this study on the anticancer factor(s) from group A streptococci, a morphological influence of 60F upon Sarcoma 180 cells, Ehrlich carcinoma cells, L1210 leukemic cells, ascites hepatoma AH-13 cells and Yoshida sarcoma cells was observed with the scanning electron microscope and then the influence of 60F upon the invasiveness of tumor cells was tested in the *in vitro-in vivo* assay system.

After a mixture of the tumor cells suspension in M/15 phosphate-buffered saline added to 1% fetal calf serum (PBSS) and a solution of 60F in PBSS was incubated at 37°C, the tumor cells were used to make the preparation for the scanning electron microscope test and the mixture was injected intraperitoneally into experimental animals.

The results obtained were as follows ;

1. The decrease or evanescence of microvilli and the appearance of blebs were observed in Sarcoma 180 cells, Ehrlich carcinoma cells, L1210 leukemic cells and Yoshida sarcoma cells.
2. The swelling of microvilli was observed in Sarcoma 180 cells, Ehrlich carcinoma cells, ascites hepatoma AH-13 cells and Yoshida sarcoma cells.
3. The 60F caused a definite inhibition of invasion power of Sarcoma 180 cells, ascites hepatoma AH-13 cells and Yoshida sarcoma cells as well as Ehrlich carcinoma cells in experimental animals, but 60F was ineffective in L1210 leukemic cells.

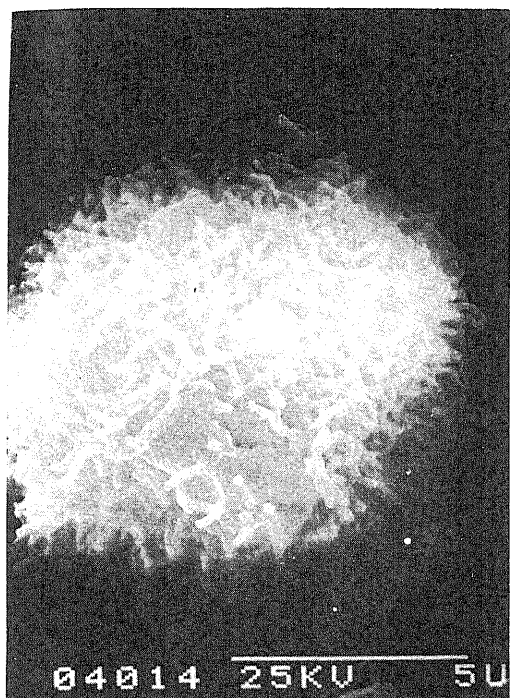


写真 1

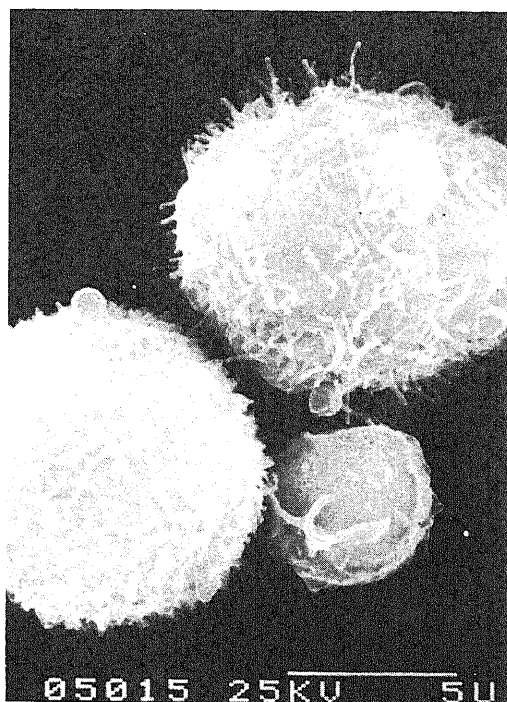


写真 2

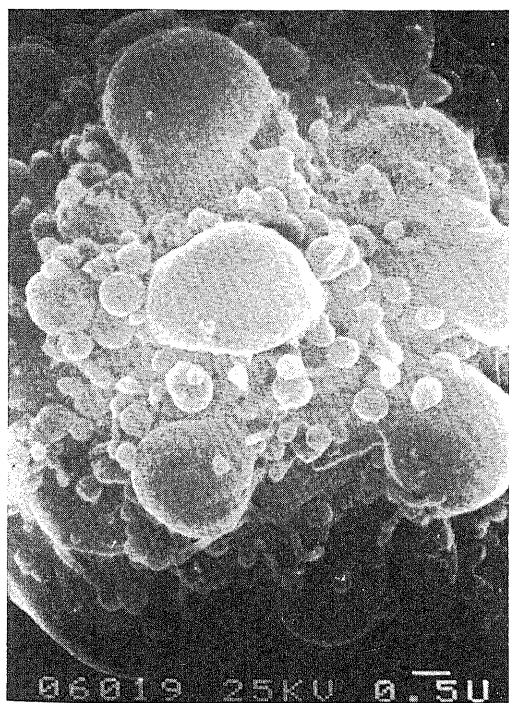


写真 3

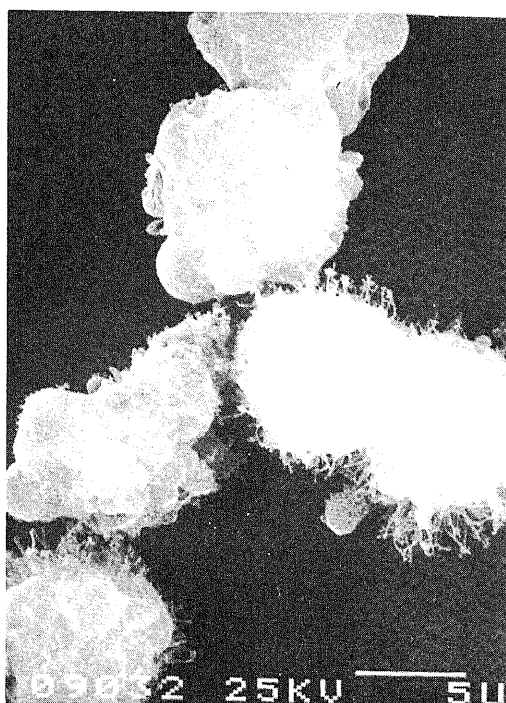


写真 4

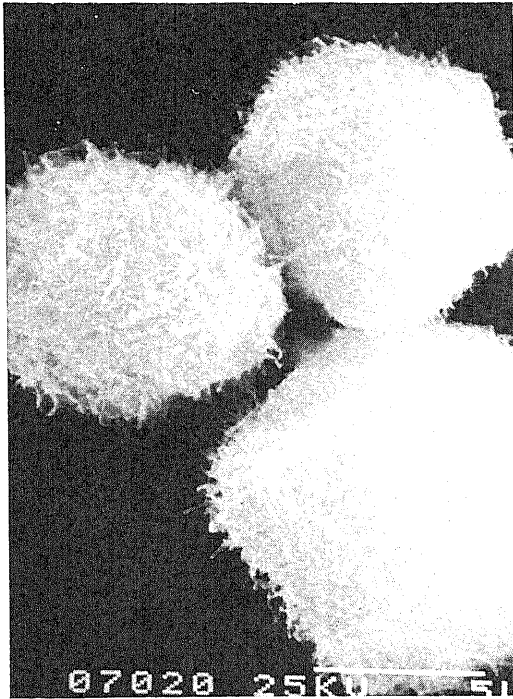


写真 5

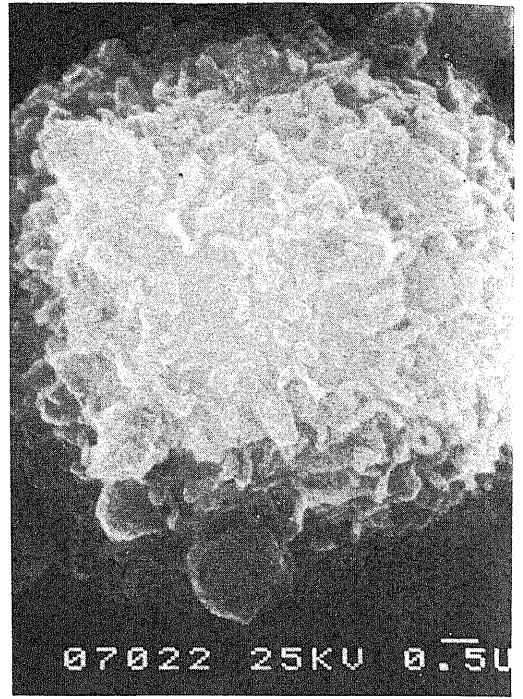


写真 6

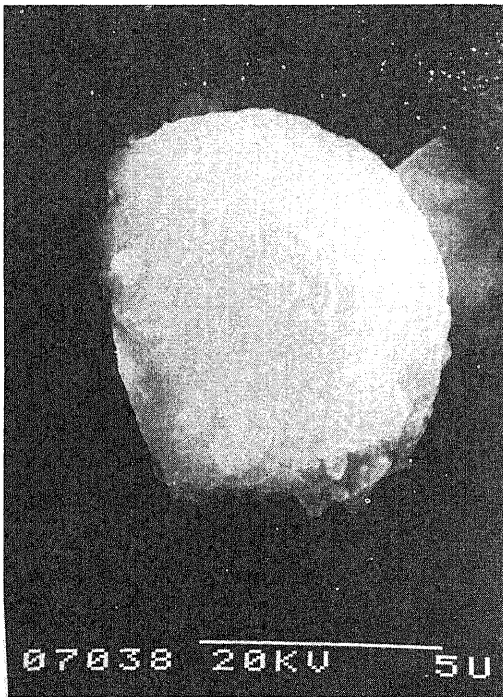


写真 7

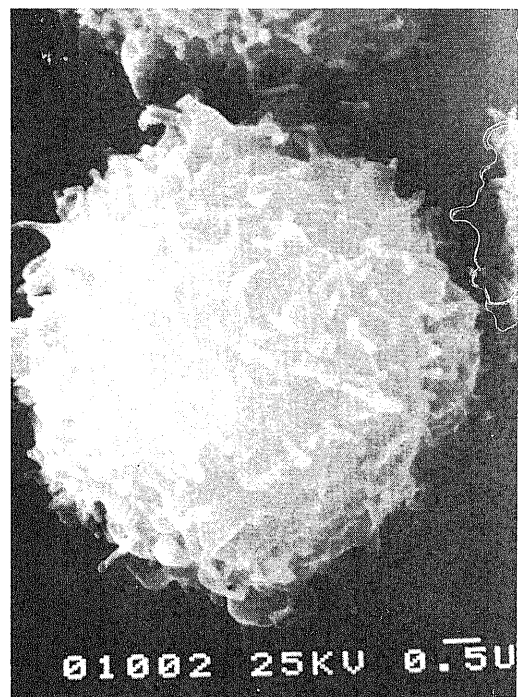


写真 8

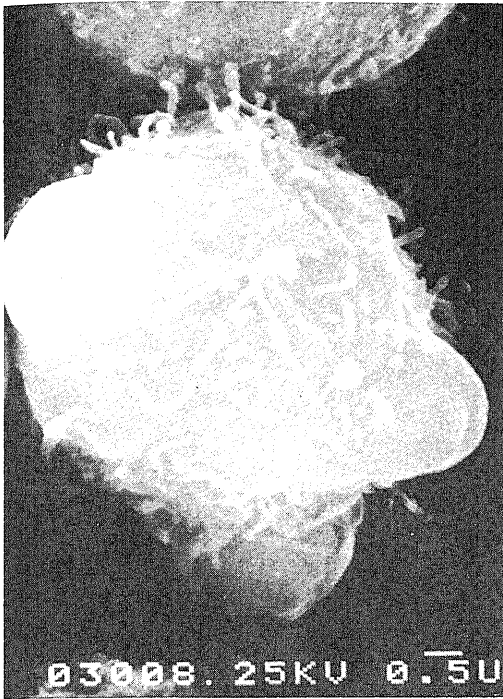


写真 9

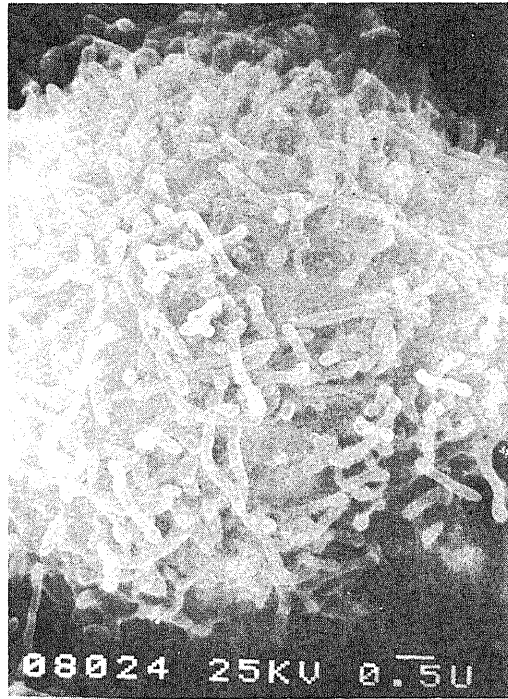


写真 10

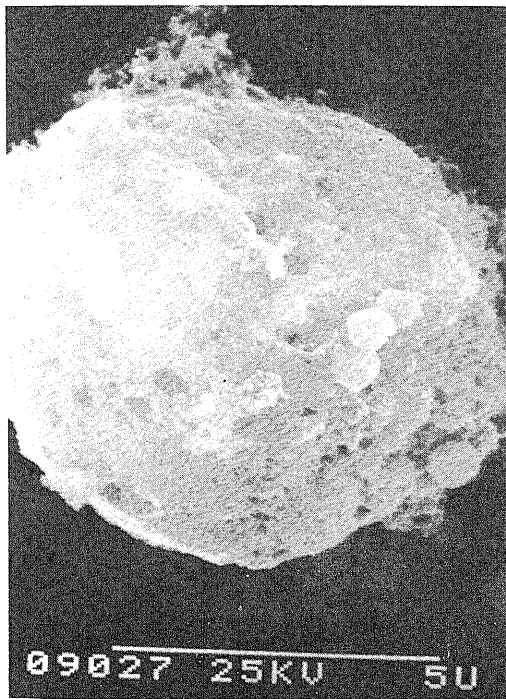


写真 11

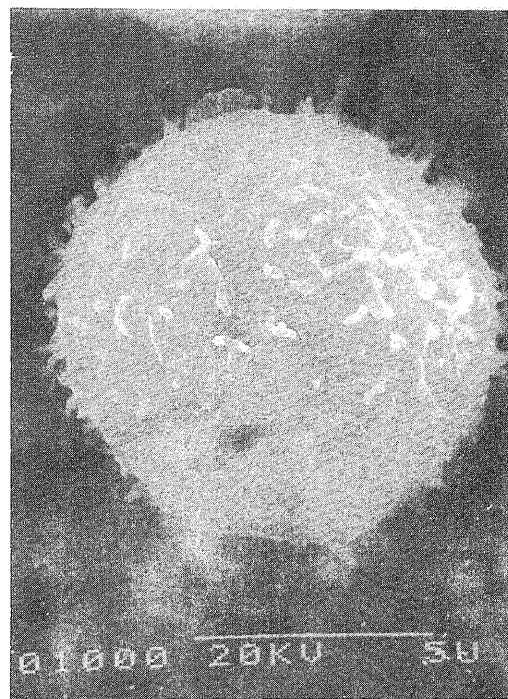


写真 12

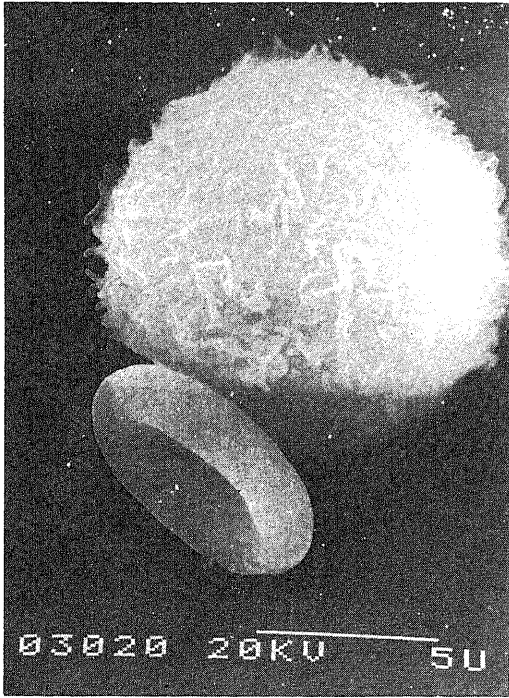


写真 13