

## 悪性腫瘍の化学療法に関する実験的研究

— actinomycin D の腫瘍細胞増殖に及ぼす影響とその併用療法について —

金沢大学大学院医学研究科第一外科学講座(主任 ト部美代志教授)

奈良 高明

(昭和41年1月31日受付)

本論文の要旨は、昭和40年10月第24回日本癌学会総会において報告した。

悪性腫瘍に対する化学療法は1946年Gilman & Phillips<sup>8)</sup>が白血病患者に対し nitrogen mustard を使用したことに端を発し、以来悪性腫瘍の化学療法はめざましい発展をとげてきた。数多くの抗腫瘍剤が発見され、それらの作用機転の解明も進むにつれて、全身にわたる作用とともに悪性腫瘍に対する効果も次第に高く評価されるようになってきた。しかし、現在の段階においてははまだ臨床面での実際の効果は決して満足できるものではない。

さらに一層の制癌効果を上げるため、新抗腫瘍剤の開発とともに、既存薬剤の投与方法に関し、大量間歇投与方法<sup>63)84)55)</sup>、局所投与方法<sup>56)21)20)</sup>、手術<sup>50)72)18)61)</sup>あるいは放射線療法<sup>92)</sup>との併用などの工夫が加えられるようになってきた。また、薬剤の作用機転の解明につれて、2種以上の作用機転の異なる薬剤を併用することにより、より効果を高めようという試みが行なわれてきている<sup>10)</sup>。Law<sup>25)</sup>らはL1210に対し8-azaguanine と amethopterin との併用が顕著な腫瘍増殖抑制効果をもたらすことを報告し、Goldin<sup>11)</sup>らも amethopterin と 6MP との併用において、また、Skipper<sup>57)</sup>らは amethopterin, ethionine 8-azaguanine の3者併用において実験的に相乗効果のあることを報告した。臨床面においても急性白血病に対し日比野<sup>16)</sup>、山形<sup>70)</sup>らによつて、6MP、副腎皮質 hormone を中心とした併用療法の効果が報告され、最近では白血病以外の悪性腫瘍に対しても2種以上の抗腫瘍剤を使用する併用化学療法が一般化されている<sup>22)70)</sup>。

さて、本実験に用いた薬剤に関してであるが、actinomycin D (以下 AMD と略記) は多くの actinomycin 群に引き続き発見され、実験腫瘍に対する

抗腫瘍性がみとめられるようになり、臨床的にも Hodgkin 氏病など、ある種のリンパ系腫瘍に対する効果が報告されている。その作用機序については一般に DNA guanine と結合し DNA 依存性 RNA 生合成を阻害することがほぼ明らかとなつてきている。一方、mitomycin C (以下 MMC と略記) については実験腫瘍に対する広汎な抗腫瘍効果がみとめられ、臨床的にも今日最も多く用いられているものの一つである。その作用機序とするところは DNA 合成抑制にあるといわれている。まず、著者は RNA 合成を抑制する AMD がマウス腹水腫瘍増殖に対しいかなる影響を与えるかを実験的に検討し、DNA 合成を抑制するといわれる MMC の効果と比較検討した。その結果、AMD は投与初期において一時的に DNA 代謝を亢進させ、細胞増殖を促進するという興味ある知見を得たので、この結果を参考とし、さらに両薬剤の作用機序の相違も考慮に入れて両薬剤の併用療法について基礎的実験を行なつた。また、抗腫瘍性については問題の点が多いが<sup>128)30)</sup>、白血病に対しては他の抗腫瘍剤と併用した場合明らかな効果がみとめられている副腎皮質 hormone と両薬剤との併用についても若干検討した。

## 実験材料および実験方法

実験動物はすべて体重 20 g 前後の dd-N または dd-S マウスであり、雌雄をとくに考慮しなかつたが同一実験にはいずれか一方のみを使用した。

腫瘍として Sarcoma 180, Ehrlich 腹水癌、白血病性腹水腫瘍 SN-36 の3種が使用された。前2者は金沢大学結核研究所より譲渡をうけ、SN-36 は東京

Experimental Studies on the Chemotherapy of Malignant Tumors. — Effects of actinomycin D and its combination with other anticancer drugs upon the growth of mouse ascites tumors —. Takaaki Nara, Department of Surgery (Director: Prof. M. Urabe), School of Medicine, Kanazawa University.

佐々木研究所より入手された。これらの腫瘍は dd-N マウスに累代移植し使用された。

投与した薬剤は AMD (Merck Sharp & Dohme 製品), MMC (協和醗酵株式会社製品), Ribonuclease (以下 RNase と略記: Worthington Biochemical Corporation 製品), prednisolone (2.5% prednisolone acetate 水性懸濁液, 塩野義製薬株式会社製品) であり, 核酸代謝に使用した isotope は  $P^{32}$  (Abbott laboratories 製品), orotic acid- $6-C^{14}$  (21.5 mc/m mol., 第一化学薬品株式会社製品),  $H^3$ -thymidine (5000 mc/mM Amersham England 製品) であり, 蛋白代謝には glycine- $2-C^{14}$  (9.9mc/m mol 第一化学薬品株式会社製品) を用いた。

腫瘍細胞腹腔内移植後 7 日目の腹水を採取し, heparine 加生理的食塩水で稀釈し,  $400 \times 10^4$  個の細胞 (0.25 ml に含有) をマウスの腹腔内に移植し, 動物の延命効果実験の場合には移植後 24時間, 72時間, 120時間の 3 回にわたり薬剤 (0.2 ml) を腹腔内に注入し, 生存日数を観察した。その他の実験の場合には移植後 4 日目に 1 回薬剤 (0.2 ml) を腹腔内に投与し, 以下の実験を行なった。なお対照群として薬剤のかわりに 0.2 ml の生理的食塩水を注入したものをを用いた。

#### 1) 腹腔内腫瘍細胞数の測定

薬剤投与後一定時間後に各動物群から 5 匹あて at random に取り出し, ether 麻酔下に殺し開腹して腹水を採取した。少量の生理的食塩水で数回腹腔内を洗浄し, 全量 15 ml になるように稀釈した。よく攪拌後白血球数算定用 mélangeur を用いて細胞数を算定し, 腹水全量より腹腔内全腫瘍細胞数を計算した。この際, 皮下に大きな腫瘤を形成するもの, 腹水の極端に少ないものは除外された。なお, 腹腔外への転移形成の有無についても, 同時に肺, 肝, リンパ腺などにつき肉眼的に検索した。

#### 2) 腫瘍細胞の有糸核分裂細胞数の測定, および形態学的変化の観察

1 群 5 匹のマウスを用い薬剤投与後一定時間後に腹水を取り出し, slide glass に塗抹し Giemsa 染色を施した。腫瘍細胞 1000 個中の prophase より telophase までの全有糸核分裂中の細胞を数えた。同じ標本を用い同時に細胞の形態学的変化についても顕微鏡的に観察した。

#### 3) 腫瘍細胞の核酸含量の測定

Schneider の方法<sup>47)</sup> に従い, 1) の場合に得た腫瘍細胞浮遊液 2 ml に冷 10% trichloroacetic acid (TCA) 8 ml を加えた後遠沈, 2 回くり返した後沈渣

を 95% ethanol で 2 回, ethanol:ether (3:1) で 50°C 10 分間 2 回攪拌しながら脂質を除き, 95% ethanol, 10% TCA で洗浄後, 5% TCA 90°C 15 分で核酸分画を得た。この抽出液につき orcinol 反応<sup>31)</sup><sup>69)</sup> および diphenylamine 反応<sup>69)</sup> を行ない, RNA, DNA 量を測定し, あらかじめ作製した標準曲線より ml 当たりの核酸量を判定し, 腫瘍細胞数より細胞当たりの核酸含量を算出した。

#### 4) 腫瘍細胞の核酸代謝の測定

isotope  $P^{32}$  を使用した場合, 薬剤を投与し一定時間後の腹水を採取し, 以下の反応液で 1 時間, 37.5°C で  $P^{32}$  を反応させた。試験管内の反応液の組成は, 0.0055M の glucose を含む Tyrode 液 1.8 ml, 細胞浮遊液 0.5 ml (腫瘍細胞  $5 \times 10^7$  個含む),  $Na_2HP^{32}O_4$  0.2 ml (20  $\mu$ c 含む) 計 2.5 ml とした。この混合液を Warburg 検圧計用 flask に入れ, 37.5°C で空気を気相とし 1 時間振盪し, 反応終了後, 直ちに 2 ml の氷冷 20% TCA を加え反応を停止させた。DNA および RNA 分画は柴谷氏法<sup>53)</sup> により得た。この各分画を 1 ml あて鋼鉄製測定皿にとり乾燥後, G.M. 計数管で放射能を測定した。同時に各分画中の磷の量を Fiske & Sabbarow<sup>7)</sup> の方法に従い定量し比放射能を算出した。in vivo で orotic acid- $6-C^{14}$  を用いた場合には, 薬剤投与後一定時間後に  $C^{14}$ -orotic acid 10  $\mu$ c (0.2 ml) を腹腔内に注入し, 1 時間後腹水を採取し, その一部につき Schmidt-Thannhauser 氏法<sup>44)</sup> により核酸分画を取り出し, その 1 ml につき orcinol 反応, diphenylamine 反応により核酸量を測定し, 他の 1 ml を鋼鉄製測定皿に取り乾燥後, windowless gas flow counter で放射能を測定し, 両者の値より比放射能を算定した。 $H^3$ -thymidine を用いた場合には, autoradiography により核内への  $H^3$ -thymidine の incorporation を検討した。すなわち,  $H^3$ -thymidine 20  $\mu$ c を腹腔内に注入し, 1 時間後に腫瘍細胞を取り出し, slide glass に塗抹し, dipping 法<sup>30)</sup> により感光乳剤 (さくらオートラジオグラフ用乳剤 NR-MI-G を 1.5 倍に蒸溜水で稀釈したもの) の中に浸した後約 3 週間 4°C で露出感光させ, その後現像, 定着し, Giemsa 染色を施行した。その標本につき腫瘍細胞 500 個中の銀粒子 5 個以上を含む label された細胞数, 並びに label された細胞 20 個につき平均銀粒子数を顕微鏡的に測定した。

#### 5) 腫瘍細胞における蛋白代謝の測定

in vivo で薬剤を作用させ一定時間後腹水を採取し, in vitro で glycine- $2-C^{14}$  の蛋白分画への incorporation を観察した。反応液の組成は腫瘍細胞浮

遊液 0.5 ml ( $8 \times 10^7$  個), Krebs Ringer phosphate (K. R. P.) (pH 7.4) 1.8 ml, glycine- $2\text{-C}^{14}$  0.2 ml ( $1\mu\text{C}$ ) 計 2.5 ml とした. Warburg 検圧計用 flask を用い  $37.5^\circ\text{C}$ , 1 時間作用させた. 蛋白分画は 4% perchloric acid (PCA) で 3 回洗浄後, 4% PCA で沸騰水浴中に 30 分置き核酸分画を除き, 2% PCA で 2 回洗浄後, ethanol 中  $75^\circ\text{C}$  20 分間攪拌しながら加温し, その後 ether で 2 回洗い脂質を除去し, 残分を乾燥後 Sartorius 電気重量計で重量を測定し, その後 windowless gas flow counter で放射能を測定し, 比放射能を算出した.

#### 6) 腫瘍細胞の内因性呼吸の測定

薬剤投与後 12 時間および 24 時間後の腫瘍細胞を取り出し Warburg 検圧計を用い酸素消費量を Warburg 直接法により測定した<sup>6a)</sup>. flask 内の液の組成は腫瘍細胞浮遊液 0.5 ml ( $5 \times 10^7$  個), K. R. P. 2.0 ml 計 2.5 ml とし, 副室には 20% KOH 0.2 ml を入れた. 空気を気相とし,  $37.5^\circ\text{C}$ , 10 分間から振りの後, 70 回/分で 2 時間振盪し, 15 分ごとに目盛りを読んだ.

#### 7) 腫瘍細胞の嫌気性解糖の測定

嫌気性下に腫瘍細胞の発生する乳酸量を測定し, その細胞の解糖能とした. 乳酸量の測定は Barker-Summerson の方法<sup>2b)</sup>に従った. 反応液の組成は腫瘍細胞浮遊液 0.5 ml ( $5 \times 10^7$  個), K. R. P. 1.75, 0.10M glucose 0.25 ml 計 2.5 ml とした. incubate 開始前すでに含まれる乳酸量を知るため, 混合後直ちに 1 ml 取り出し, 10% TCA 9 ml を加え, 残りを Thumberg 管内に入れ, 水流 pump で吸引し, 気泡の発生が止まって 3 分後, 側室部分を回転閉鎖し,  $37.5^\circ\text{C}$ , 2 時間静置した後, 発生した乳酸量を Collman 光電比色計により比色定量した. その値より最

初の値を差し引いたものをもつて 2 時間の  $5 \times 10^7$  個の腫瘍細胞の乳酸発生量とした.

## 実験成績

### I AMD と MMC との腹水腫瘍に及ぼす影響

AMD が各種腹水腫瘍, とくに Sarcoma 180 の増殖に対しどのような変化を与えるかを, MMC の効果と比較しながら継続的に観察した.

#### 1) 腫瘍移植動物の生存日数の変化 (表 1. 図 1)

図 1 AMD の腹水腫瘍動物の延命効果

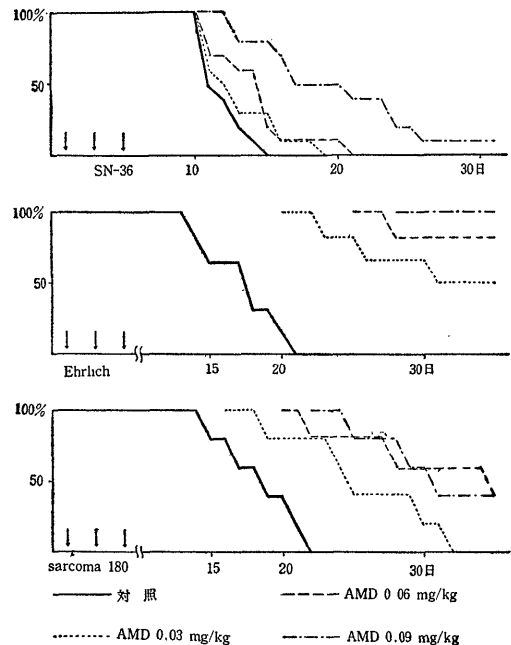


表 1 AMD の腹水腫瘍動物の延命効果

	AMD mg/kg	生存日数	平均生存日数*	50日生存数
Sarcoma 180	0	14~21日	17.2日	0/5
	0.03	18~31	25.4	0/5
	0.06	22~	36.6以上	2/5
	0.09	25~	36.6以上	2/5
Ehrlich 腹水癌	0	13~20	16.7	0/6
	0.03	22~	38.0以上	3/6
	0.06	27~	46.1以上	5/6
SN-36	0	10~14	10.2	0/10
	0.03	10~18	12.3	0/10
	0.06	10~20	13.3	0/10
	0.09	12~	22.2以上	1/10

\* 50日以上生存したものは50日として計算した.

実験に用いた腫瘍の移植率は100%で、動物の生存日数については腫瘍間に差はあるがすべて腫瘍死した。AMDに対する感受性は Ehrlich 腹水癌, Sarcoma 180 では強いが、SN-36 では少し劣る。Sarcoma 180, Ehrlich 腹水癌においてはそれらを持つ動物の平均生存日数はそれぞれ17.2日および16.7日であったが、AMD 0.03 mg/kg 投与時 Sarcoma 180 の動物のそれは25.4日、Ehrlich 腹水癌の動物のそれは38.0日であり、著しい延長をみとめ、AMD 0.06 mg/kg 投与した場合動物の生存日数はそれぞれ36.6, 46.1日であり、平均生存日数はさらに著しく延長した。しかも、前者においては5匹中2匹に、後者では6匹中5匹に50日の生存をみた。SN-36 を持つ動物の平均生存日数は10.2日であり、AMD 0.03, 0.06mg

/kg の投与では生存日数に軽度の延長をみとめるのみであり、0.09 mg/kg 投与で生存日数は初めて22.2日となつて延長をみとめた。SN-36 は nitromin により発生した腫瘍であり、nitromin に対し耐性を持つが、AMD に対しても感受性が低いことを知つた。

#### 2) 腹腔内腫瘍細胞数の変化 (表2, 3, 4. 図2)

腹腔内全腫瘍細胞数は薬剤投与前の各腫瘍の間でかなり数値の差異を示す。同一腫瘍間でも実験のたびごとに細胞数は異なつた値を示し、また、1匹5群としたが同一群中でも個体差はかなり大きいものがあつた。表に示した数値は5匹の平均値である。薬剤投与前の腫瘍細胞数は  $1.0 \sim 2.2 \times 10^8$  個の間にあり、標準誤差は  $0.15 \sim 0.37$  であつた。

AMD 投与による腫瘍細胞数の変化は、腫瘍の種類

表2 腹腔内腫瘍細胞数に及ぼす AMD の影響  
Sarcoma 180 ( $4 \times 10^6$ ) 移植後4日目に AMD を1回腹腔内投与した。単位は  $10^8$  個

		投与前	6時間	12時間	24時間	48時間
実験 I	対 照	1.66		1.86	2.06	2.49
	AMD 0.06mg/kg			1.90	1.96	2.27
	AMD 0.12mg/kg			2.02	1.87	1.12
実験 II	対 照	2.22	2.51	2.62	3.04	3.41
	AMD 0.06mg/kg		3.07	3.36	2.35	1.97
	AMD 0.12mg/kg		2.28	3.12	1.78	1.01

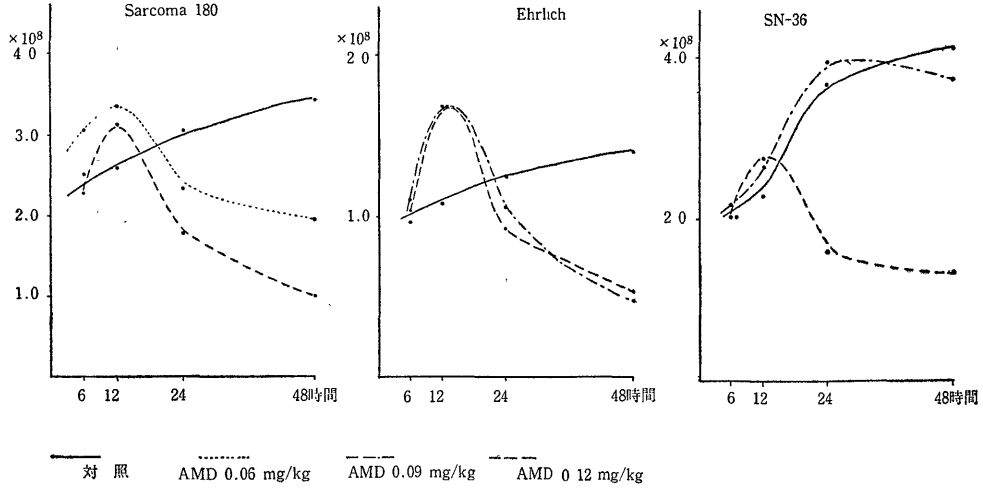
表3 腹腔内腫瘍細胞数に及ぼす AMD の影響  
SN-36 ( $\times 10^8$ )

		投与前	6時間	12時間	24時間	48時間	72時間
実験 I	対 照	1.27		1.76	2.42	3.63	3.92
	AMD 0.03mg/kg			1.94	2.76	3.13	4.32
	AMD 0.06mg/kg			1.55	2.34	2.21	3.39
実験 II	対 照	1.98	2.01	2.29	3.66	4.10	
	AMD 0.09mg/kg		2.16	2.64	3.93	3.75	
	AMD 0.12mg/kg		2.01	2.75	1.55	1.35	

表4 腹腔内腫瘍細胞数に及ぼす AMD の影響  
Ehrlich 腹水癌 ( $\times 10^8$ )

		投与前	6時間	12時間	24時間	48時間	72時間
実験 I	対 照	1.01	0.96	1.08	1.25	1.40	
	AMD 0.09mg/kg		1.10	1.68	1.05	0.48	
	AMD 0.12mg/kg		1.03	1.68	0.91	0.54	
実験 II	対 照	1.69	1.78	2.00	2.76	3.36	4.76
	AMD 0.03mg/kg		1.57	2.17	2.85	3.91	3.91
	AMD 0.06mg/kg		1.45	1.99	2.25	2.69	3.76

図2 AMD の腹腔内腫瘍細胞数に及ぼす影響



によって異なる。一般にAMDの少量(0.03~0.06mg/kg)投与群と非投与群との間に腫瘍細胞数の著しい差をみとめないが、AMDの0.09~0.12mg/kgの比較的大量を投与した場合顕著な腫瘍細胞数の減少がみられた。これを時間的にみると、24時間値に初めて減少傾向がみられ、48時間で最低値を示し、74時間ではやや回復の傾向がみとめられた。投与後48時間目の減少度はAMDの投与量の大きいものほど大であり、0.12mg/kg投与時Sarcoma 180で非投与群のその37~44%、Ehrlich腹水癌で39%、SN-36で33%あった。また、AMD投与後短時間の観察においては同じ投与量で投与後6時間目、12時間目の腫瘍細胞数はかえって非投与群のそれより増加する傾向をみとめ、その傾向は12時間目の腫瘍細胞数において最も大きく、Ehrlich腹水癌では非投与群のその156%を示したが、他の腫瘍においてもそれより軽度(119~120%)ではあるが同様の傾向をみとめた。

Sarcoma 180を用い腹腔内にMMC1mg/kgを投与した場合の腫瘍細胞数の変化(表5、図3)を同時に比較すると、AMD投与の場合にみられた投与初期の腫瘍細胞数の増加する現象は全くみとめられず、投与後6時間ですでに減少の傾向がみられ、以後漸減し、24時間目には非投与群のその39%となり、最低

値を示し、48時間、72時間後には回復の傾向をみとめた。

3) 腫瘍細胞の有糸核分裂数の変化(表6、図4)

Sarcoma 180の腫瘍細胞につき検討した。薬剤非投与群の腫瘍細胞の分裂係数は3.33~4.01%の範囲にあり、移植後4日目より48時間観察したが、観察中の

図3 MMC の腹腔内腫瘍細胞数に及ぼす影響  
Sarcoma 180

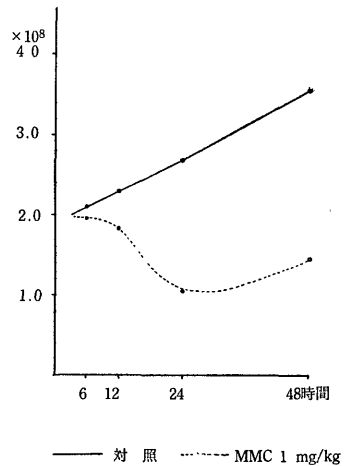


表5 細胞数に対するMMCの影響  
Sarcoma 180 (x 10^8)

	投与前	6時間	12時間	24時間	48時間	72時間
対 照	2.15	2.10	2.27	2.66	3.55	3.93
MMC 1 mg/kg		1.98	1.83	1.03	1.43	2.21

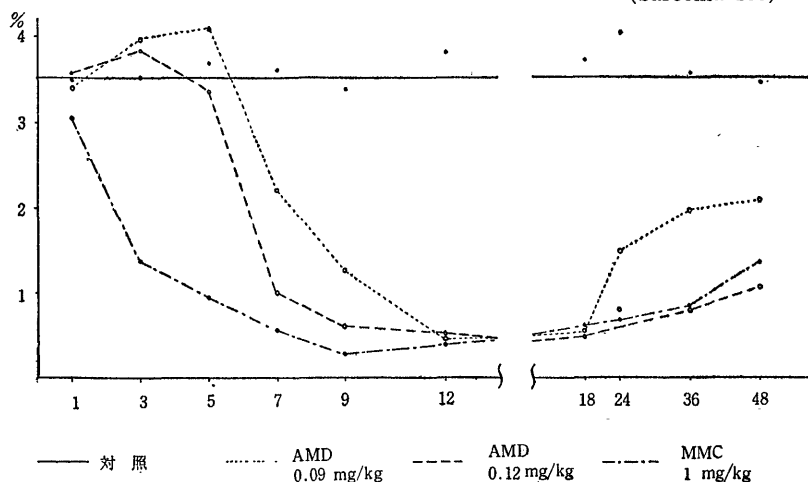
表6 腫瘍細胞の有糸核分裂に及ぼす AMD, MMC の影響

Sarcoma 180

時 間 *	対 照	AMD 0.12mg/kg	AMD 0.06mg/kg	MMC 1mg/kg
1	34.9**	35.4	34.0	30.1
3	35.3	38.2	39.4	13.3
5	33.3	36.5	40.5	9.2
7	36.0	10.3	22.0	5.7
9	33.4	6.0	12.6	3.0
12	38.0	5.1	5.0	4.2
18	37.1	4.8	5.3	5.5
24	40.1	8.1	15.2	6.7
36	35.8	7.7	19.7	8.1
48	34.3	10.3	20.8	11.3

\* 薬剤投与後の時間を示す。 \*\* 細胞100個中の分裂細胞数（5匹の平均値）

図4 AMD および MMC の腫瘍細胞の核分裂係数に及ぼす影響 (Sarcoma 180)



特異の変化はみられなかつた。AMD を投与すると、投与後 7 時間目より腫瘍細胞の有糸核分裂数は減少し始め、12~18 時間目にはほとんど分裂像を観察できない程度に低下し、以後徐々に回復してくるのを知った。AMD の投与量が多い場合には分裂係数の低下の速度は早くなり、また、回復の時間がやや遅れるが、減少の開始時間および低下の程度は同じであつた。これに対し MMC 1mg/kg 投与群では投与後 1 時間目にすでに有糸核分裂数の減少がみとめられ、9~18 時間目に最低値を示し、以後徐々に回復した。すなわち MMC の分裂係数に及ぼす抑制効果は投与後間もなく起こり、AMD 投与後においては約 7 時間を置いて減少が現われてくる。その時間中の分裂係数は非投与群よりやや多いことは腫瘍細胞数の一時的増加の現象と関連があるものと考えられる。

## 4) 腫瘍細胞の形態学的変化 (写真 1~5)

AMD 0.06 mg/kg 投与群では投与後 9 時間目の標本において一部の腫瘍細胞に被染色性の低下、染色体の凝集、断裂、疎散、胞体の膨化が観察されるようになり、12 時間目にはこの変化は多くの腫瘍細胞に起こり、さらに細胞質融解、核の崩壊が観察された。18 時間以後は大部分の腫瘍細胞はこれら変性、崩壊した細胞となる。また、残存する腫瘍細胞は一般に小型を呈するのが観察された。これは細胞質の減少に基づくものである。AMD 0.12 mg/kg を投与した際の腫瘍細胞の変化も、少量投与の場合と全く同様であつたが、腫瘍細胞の変化が 2 時間早く起こってくるのがみられた。MMC 投与群の腫瘍細胞の変化は投与の場合とほとんど区別できず、ただ時間的に AMD 投与群より少し早く起こり、投与後 5~7 時間後より変化が起こる

のが観察された。しかし、残存する腫瘍細胞はむしろ大型を呈した。核並びに細胞質両者とも増大することによるものである。

5) 腫瘍細胞の核酸含量の変化(表7, 8, 9, 10. 図5)  
腫瘍細胞当たりの RNA 含量は移植後の日数の経過

表7 AMD および MMC の腫瘍細胞の核酸含量に及ぼす影響  
Sarcoma 180

		6 時間	12 時間	24 時間	48 時間
DNA $\mu\text{g} \times 10^6$ 個	対 照	5.11	4.98	4.85	5.32
	AMD 0.06 mg/kg	4.98	4.84	5.01	5.20
	AMD 0.12 mg/kg	5.22	4.72	4.95	5.31
	MMC 1.0 mg/kg				4.70
RNA $\mu\text{g} \times 10^6$ 個	対 照	5.03	4.60	5.02	4.99
	AMD 0.06 mg/kg	4.38	3.20	2.35	2.37
	AMD 0.12 mg/kg	4.62	3.15	1.71	2.24
	MMC 1.0 mg/kg				6.99
RNA/DNA	対 照	0.98	0.92	1.03	0.94
	AMD 0.06 mg/kg	0.88	0.66	0.47	0.46
	AMD 0.12 mg/kg	0.88	0.67	0.35	0.42
	MMC 1.0 mg/kg				1.48

表8 AMD の腫瘍細胞の核酸含量に及ぼす影響  
Ehrlich 腹水癌 (1)

		6 時間	12 時間	24 時間	48 時間
DNA $\mu\text{g} \times 10^6$ 個	対 照	5.57	5.43	5.20	4.90
	0.03 mg/kg	5.48	5.15	5.10	4.96
	0.06 mg/kg	5.69	5.37	5.35	5.16
RNA $\mu\text{g} \times 10^6$ 個	対 照	5.23	5.27	5.07	4.75
	0.03 mg/kg	4.50	4.02	3.71	3.79
	0.06 mg/kg	4.42	4.03	3.61	3.65
RNA/DNA	対 照	0.94	0.96	0.97	0.97
	0.03 mg/kg	0.82	0.78	0.73	0.71
	0.06 mg/kg	0.77	0.75	0.67	0.69

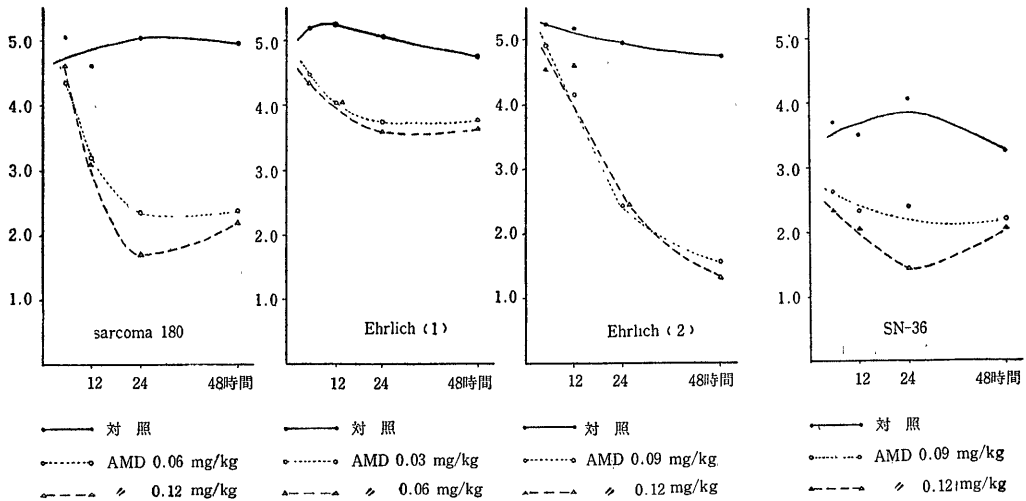
表9 AMD の腫瘍細胞の核酸含量に及ぼす影響  
Ehrlich 腹水癌 (2)

		6 時間	12 時間	24 時間	48 時間
DNA $\mu\text{g} \times 10^6$ 個	対 照	5.19	4.86	5.28	5.10
	AMD 0.09 mg/kg	5.35	4.57	5.31	4.71
	AMD 0.12 mg/kg	4.90	5.09	4.95	5.25
RNA $\mu\text{g} \times 10^6$ 個	対 照	5.27	5.19	4.95	4.75
	AMD 0.09 mg/kg	4.94	4.12	2.45	1.58
	AMD 0.12 mg/kg	4.54	4.60	2.49	1.35
RNA/DNA	対 照	1.02	1.06	0.94	0.93
	AMD 0.09 mg/kg	0.92	0.90	0.46	0.34
	AMD 0.12 mg/kg	0.93	0.90	0.50	0.26

表10 AMD の腫瘍細胞の核酸含量に及ぼす影響  
SN-36

		6 時間	12 時間	24 時間	48 時間
DNA $\mu\text{g} \times 10^6$ cells	対 照	2.67	2.55	2.90	2.35
	0.09 mg/kg	2.76	2.59	2.71	2.41
	0.12 mg/kg	2.96	2.46	3.02	2.67
RNA $\mu\text{g} \times 10^6$ cells	対 照	3.70	3.51	4.09	3.21
	0.09 mg/kg	2.63	2.35	2.38	2.21
	0.12 mg/kg	2.35	2.07	1.47	2.09
RNA/DNA	対 照	1.38	1.38	1.41	1.36
	0.09 mg/kg	0.95	0.91	0.88	0.92
	0.12 mg/kg	0.79	0.84	0.49	0.78

図5 AMD の腫瘍細胞の核酸含量に及ぼす影響 (RNA 含量)



とともに低下するといわれているが<sup>54)</sup>、本実験では短期実験のため、同一腫瘍薬剤非投与群の腫瘍細胞ではほとんど差をみとめず、わずかに Ehrlich 腹水癌、SN-36 にその傾向がみとめられたにすぎない。薬剤非投与群の腫瘍細胞の DNA 含量は Ehrlich 腹水癌、Sarcoma 180 のそれは大体  $5.0 \mu\text{g} \times 10^{-6}$  前後であり、RNA 量はそれと同等かまたはそれよりわずかに低値を示した。SN-36 腫瘍細胞においては DNA 含量は低く  $2.35 \sim 2.9 \times 10^{-6} \mu\text{g}$  であり、RNA 量は  $3.2 \sim 4.1 \times 10^{-6} \mu\text{g}$  の値であつた。

AMD を投与した場合、いずれの腫瘍においても投与後 6 時間ですでに細胞当たりの RNA 量は顕著な低下を示し、24 時間または 48 時間目に最低値を示した。すなわち、SN-36 では 0.09 mg/kg 投与後 24 時間目に非投与群のその 58.5%、0.12 mg/kg 投与後には 35.9% Ehrlich 腹水癌では、0.06 mg/kg 投与後

24 時間目に非投与群のその 67.1%、0.09 mg/kg および 0.12 mg/kg 投与した場合 48 時間目にそれぞれ 33.3%、28.4% となり、Sarcoma 180 では 0.06 mg/kg 投与後 24 時間目に 46.7%、0.12 mg/kg 投与後 24 時間目となつて顕著な低下を示した。一方、AMD 投与後の DNA 含量においては非投与群のそれと比べてほとんど差をみとめなかつた。

Sarcoma 180 に MMC 1 mg/kg を投与し 24 時間後の腫瘍細胞の核酸含量を調べると、AMD 投与の場合と異なり、RNA 含量は減少せずむしろ非投与群のその 140% となつて顕著な増加を示し、DNA 含量に関してはむしろ軽度の減少 (88%) をみとめたが、有意の差とはいいがたい。

#### 6) 腫瘍細胞の核酸代謝の変化 (表11, 12. 図6)

Sarcoma 180 について検索すると、薬剤非投与群において、各実験ごとに腫瘍細胞の DNA, RNA 代



表11 AMD および MMC 投与後の腫瘍細胞の DNA 代謝

		Sarcoma 180			
		* $\frac{c.p.m}{\mu g}$			
		3 時間	6 時間	12 時間	24 時間
実験 I	対 照	1172 *	1289	801	1072
	AMD 0.06 mg/kg	1291	1531	724	819
	AMD 0.12 mg/kg	1737	1675	696	812
実験 II	対 照	1164	1190	975	1167
	AMD 0.06 mg/kg	1408	1454	911	807
	AMD 0.12 mg/kg	1502	1530	788	794
MMC 1 mg/kg		957	774	537	562

表12 AMD および MMC 投与後の腫瘍細胞の RNA 代謝

		Sarcoma 180			
		* $\frac{c.p.m}{\mu g}$			
		3 時間	6 時間	12 時間	24 時間
実験 I	対 照	3168 *	3277	4178	3735
	AMD 0.06 mg/kg	2288	2302	2671	2945
	AMD 0.12 mg/kg	1996	2533	2004	2383
実験 II	対 照	2598	3766	3775	3368
	AMD 0.06 mg/kg	1858	2413	2435	2780
	AMD 0.12 mg/kg	1943	2641	1755	2594
MMC 1 mg/kg		2625	3314	3281	2858

謝の程度にかなりの差をみとめたが、時間の経過による特有の変化はみられなかつた。恐らくマウス間での個体差、腹水採取より incubate までの時間の相違、採取時の腹水の状態などによるものと考えられる。AMD を投与した場合、腫瘍細胞の RNA への P<sup>32</sup> incorporation は投与後 3 時間目においてすでに低下をみとめ、12 時間で最低値を示し、24 時間でやや回復をみとめた。低下度は薬剤投与量の多い方に顕著で、0.12 mg/kg 投与時 12 時間目に非投与群のその 48% および 46.5% にまで低下を示した。一方 DNA への P<sup>32</sup> の incorporation は投与後 3 時間目、6 時間目とも非投与群のそれより大であり、3 時間目、6 時間目とも 110~150% の増加率を示し、薬剤投与後 3 時間から 6 時間にわたって腫瘍細胞の DNA 代謝の亢進をみとめた。

MMC 1 mg/kg 投与した場合、腫瘍細胞の DNA の比放射能は投与後 3 時間目にすでに減少し、24 時間には非投与群のその 45% にまで低下を示した。腫瘍細胞の RNA 代謝は薬剤投与後 3 時間目では非投与群のそれと同程度であるが、以後徐々に減少し、24 時間

目には 85% となり軽度の低下をみとめたにすぎなかつた。

7) AMD の腫瘍細胞の蛋白代謝に及ぼす影響 (表 13, 図 7)

C<sup>14</sup>-glycine の腫瘍細胞の蛋白分画への incorporation を AMD 投与後 6, 12, 24, 48 時間目の Sarcoma 180 の腫瘍細胞につき in vivo で観察すると、蛋白分画の比放射能は薬剤投与後 6 時間、12 時間、24 時間で低下し、48 時間では非投与群のそれとほぼ同様の値を示した。腫瘍細胞の蛋白代謝の程度は腫瘍細胞の RNA 代謝の低下度より軽く、最低値を示した投与後 12 時間目の値は 0.06 mg/kg 投与時非投与群のその 84%、0.12 mg/kg 投与時 77% であつた。腫瘍細胞の蛋白代謝と腫瘍細胞の RNA 代謝低下との時間的關係はこの成績より正確には判断し得ないが、薬剤投与後比較的早期より RNA 代謝の低下とともに蛋白代謝低下が起こってくるものと考えられる。

8) AMD の腫瘍細胞の嫌気性解糖および内因性呼吸に及ぼす影響 (表 14, 15)

AMD 投与後 12 時間および 24 時間後の腫瘍細胞につ

図6 AMD および MMC の腫瘍細胞の核酸代謝に及ぼす影響 (Sarcoma 180)

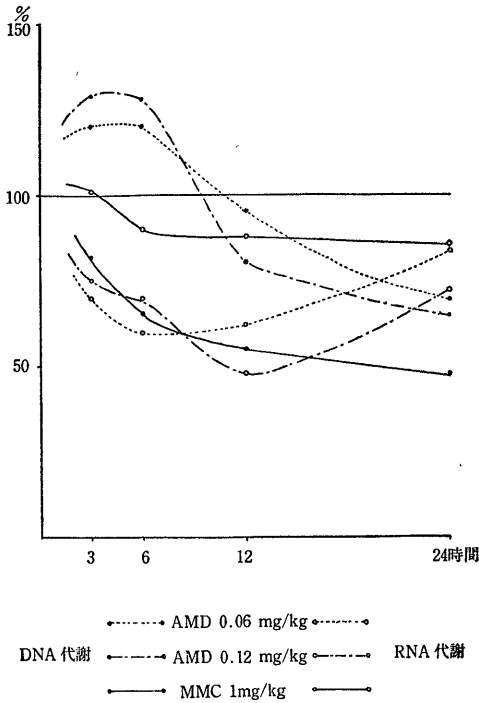


表13 AMD の腫瘍細胞の蛋白代謝に及ぼす影響 Sarcoma 180

AMD \ 時間	6時間	12時間	24時間	48時間
対 照	2280	2510	2180	2830
0.06 mg/kg	1910	2110	1940	2790
0.12 mg/kg	2130	1940	1990	2580

図7 AMD の腫瘍細胞の蛋白代謝に及ぼす影響 (Sarcoma 180)

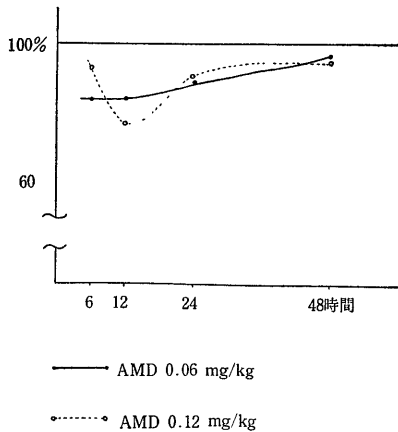


図8 AMD の腹腔内腫瘍細胞数, 腫瘍細胞の核分裂係数, 腫瘍細胞の核酸代謝, RNA 含量, 蛋白代謝に及ぼす影響 (Sarcoma 180) AMD 0.12 mg/kg

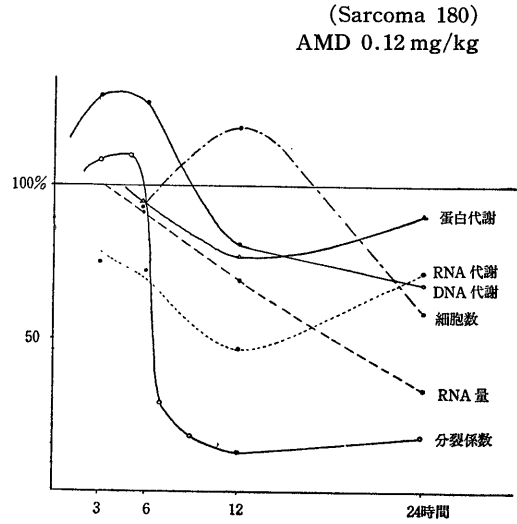


図9 MMC の腹腔内腫瘍細胞数, 腫瘍細胞の核分裂係数, 核酸代謝に及ぼす影響 (Sarcoma 180) MMC 1mg/kg

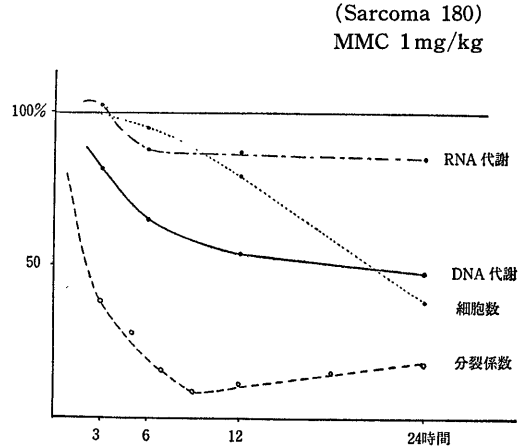


表14 AMD の腫瘍細胞の解糖に及ぼす影響 乳酸発生量 (mg/flask) Sarcoma 180

	12 時間	24 時間
対 照	3.58	3.34
AMD 0.06 mg/kg	2.25	2.15
AMD 0.12 mg/kg	3.48	3.02
MMC 1.0 mg/kg		2.70
対 照	2.85	3.15
AMD 0.06 mg/kg	3.07	2.99
AMD 0.12 mg/kg	2.65	3.06
MMC 1.0 mg/kg		2.54

表15 AMD の腫瘍細胞の内因性呼吸に及ぼす影響  
 酸素消費量 ( $\mu\text{l}/120\text{分}$ ) Sarcoma 180

	12 時間	24 時間
対 照	85	112
AMD 0.06 mg/kg	88	106
AMD 0.12 mg/kg	90	105
MMC 1.0 mg/kg		94
対 照	134	92
AMD 0.06 mg/kg	130	95
AMD 0.12 mg/kg	128	82
MMC 1.0 mg/kg		80

いて検討したが、AMD 投与による影響をほとんどみることができなかつた。とくに腫瘍細胞の酸素消費量では薬剤非投与群のそれとの間には全く差をみとめず、腫瘍細胞の乳酸発生量でも AMD 0.12mg/kg 投与後24時間目の腫瘍細胞でわずかの低下(9%)をみとめたにすぎなかつたが、これも有意の差とはいえない。したがって、AMD は腫瘍細胞の energy 代謝系には影響を与えないものと考えられる。MMC 投与群では腫瘍細胞の嫌気性解糖、内因性呼吸はそれぞれ薬剤投与後24時間で20%程度低下するのをみとめた。

以上の結果を総合すると図8、9のごとくなる。すなわち、AMD を腹腔内投与した場合、腹水腫瘍細胞の RNA 代謝がまず抑制され、腫瘍細胞内 RNA 含量が低下し、次いで、数時間経てから腫瘍細胞の分裂係数の低下および DNA 代謝抑制が起こり、同時に腫瘍細胞の変性が生じ、腹腔内腫瘍細胞の減少が現われてくる。腫瘍細胞の蛋白代謝は RNA 代謝の低下に伴ない薬剤投与後早期より低下してくるようである。さらに特異な変化として、薬剤投与後3時間目、6時間目に一時腫瘍細胞の DNA 代謝の亢進がみられ、6時

間目、12時間目には腹腔内腫瘍細胞数に増加の傾向がうかがわれた。一方 MMC 1 mg/kg を腹腔内投与した場合、腹水腫瘍細胞の DNA 代謝低下および分裂係数の減少がまず起こり、次いで腫瘍細胞の変性、崩壊、細胞数の減少がそれに少し遅れて起こり、RNA 代謝抑制もそれと同時に発現してきた。

9) RNase の腹腔内腫瘍細胞数、核酸含量、核酸代謝に及ぼす影響(表16、図10)

Sarcoma 180 を持つマウスの腹腔内に RNase 500 mg/kg 1 回投与し検討した。その結果、腹腔内腫瘍細胞数は非投与群のそれとの間に特異の差を示さなかつた。腫瘍細胞の核酸含量において、RNA 量は投与後6時間値で非投与群のその85%と低下をみとめ、AMD 投与時の腫瘍細胞 RNA の減少度に比べてはるかに軽度ではあるが減少を示した。投与後12時間目以後には非投与群のそれと差はない。また、腫瘍細胞の DNA 量においても特異な変化はみとめられなかつた。腫瘍細胞の核酸代謝において DNA への  $\text{P}^{32}$  incorporation は投与後6時間目に非投与群のその125%となり上昇をみとめ、投与後12時間目および24時間目の腫瘍細胞では非投与群と同程度の比放射能を示し、RNA 代謝は一般に非投与群に比し軽度の低値をみとめたが、有意の差とはいえない。以上の結果 RNase は投与後6時間目の腫瘍細胞において軽度ではあるが RNA 含量の低下と DNA 代謝亢進とをきたさしめ、AMD 投与による変化との共通性をみとめ得た。

II AMD および MMC を用いた腹水腫瘍の併用化学療法に関する実験

実験(I)で得た結果を参考にして腫瘍細胞に対する AMD および MMC の両薬剤のより有効な併用法について考案し、同時にこの両薬剤と副腎皮質 hor

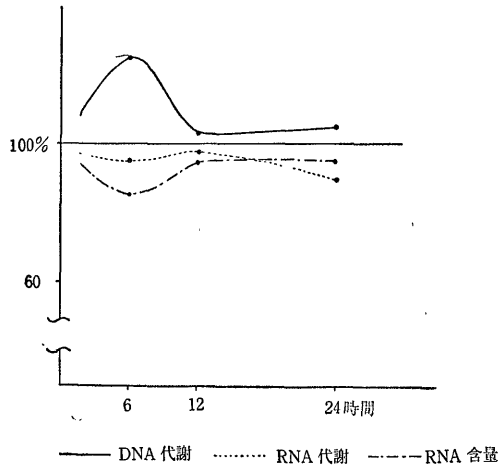
表16 RNase (500 mg/kg) 投与後の腹腔内腫瘍細胞数、核酸含量および核酸代謝  
 Sarcoma 180

		6 時間	12 時間	24 時間
細胞数 $\times 10^6$	対 照	3.7	4.1	4.6
	RNase	4.0	3.9	5.2
DNA $\mu\text{g} \times 10^6$ 個	対 照	3.65	4.02	3.78
	RNase	3.83	3.90	3.40
RNA $\mu\text{g} \times 10^6$ 個	対 照	4.44	4.86	4.60
	RNase	3.74	4.62	4.37
比放射能 DNA $\frac{\text{c.p.m}}{\text{p} \mu\text{g}}$	対 照	1378	1072	962
	RNase	1721	1102	1057
比放射能 RNA $\frac{\text{c.p.m}}{\text{p} \mu\text{g}}$	対 照	4024	3364	3057
	RNase	3810	3195	2764

mone との併用を試みた。腫瘍としてすべて SN-36 を使用した。

1) 腹水腫瘍に対する AMD と MMC との併用

図10 RNase の核酸代謝, RNA 量に及ぼす影響 (Sarcoma 180)



(a) 腫瘍動物の生存日数および体重変化 (表17, 図11)

薬剤非投与群の腫瘍を移植された動物の生存日数は7~12日で平均生存日数は9.7日であり, すべて腫瘍死した。腫瘍移植後6日目の動物の体重増加率は11.6%であつた。AMD, MMC を単独に投与した場合薬剤非投与群に比べ動物は1.5~3.1倍の平均生存日数を持ち, 延長がみとめられ, とくに MMC 2mg/kg 投与した場合に最長の30.1日の平均生存日数を数え, 中には完全治癒とみなすべきものもある。腫瘍動物の体重は一般に減少し, AMD 0.09mg/kg 投与の場合, 投与前体重の7.0%の減少をみた, AMD と MMC を併用した場合, 動物の平均生存日数は3.2~3.3倍となり顕著に延長し, 10匹中5匹および4匹に完全治癒とみなすべき50日生存例をみた。しかも, 比較的早期に死亡したものの中に腫瘍死というよりむしろ薬剤の過量投与によると思われるものがあり, とくに AMD 0.09mg/kg, MMC 1mg/kg 投与した群にそれがみられた。したがって, 腫瘍細胞そのものに対する併用の効

表17 腹水腫瘍に対する AMD と MMC との併用 腫瘍動物の生存日数および体重変化 SN-36

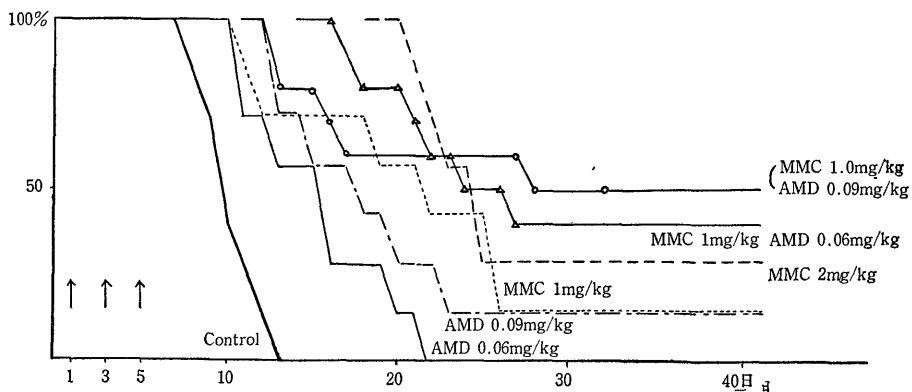
AMD mg/kg	MMC mg/kg	体重変化率* (%)	生存日数	平均生存日数**	50日生存数
0	0	+11.6	7~12	9.7	0/7
0.06	0	± 0	10~21	14.6	0/7
0.09	0	- 7.0	12~	22.6以上	1/7
0	1	- 2.3	11~	20.9 "	1/7
0	2	- 4.7	20~	30.1 "	2/7
0.06	1	- 9.3	16~	32.3 "	4/10
0.09	1	-14.0	12~	31.3 "	5/10

\* 薬剤投与終了翌日の体重変化率

\*\* 50日以上生存したものは50日として計算した。

図11 腹水腫瘍に対する AMD と MMC との併用の生存日数に及ぼす影響

(SN-36)



果はさらに大きいものと考えなければならないが、一方動物の体重の変化も併用群では -9.3, -14.0%の減少をみると、宿主に対する影響力も著しく大きいものとみられる。

(b) AMD, MMC 併用療法の場合の腹腔内腫瘍細胞数および分裂係数の変化 (表18, 図12)

MMC 1 mg/kg, AMD 0.09 mg/kg を合併使用した。AMD の腫瘍細胞 DNA 代謝亢進作用を考慮に入れ、AMD と MMC との投与時間によつて併用群を次の5群に分けた。薬剤の最初の投与から起算して36時間後に細胞数および分裂係数を測定した。

図12 腹水腫瘍に対する AMD と MMC との併用 (SN-36 薬剤投与後36時間値) 腹腔内腫瘍細胞数

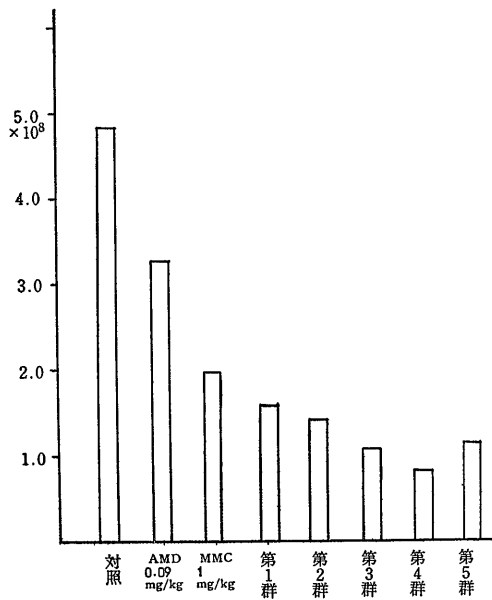


表18 腹水腫瘍に対する AMD と MMC との併用腫瘍細胞の核分裂係数, 腹腔内腫瘍細胞数, 核酸含量 SN-36

	対 照	AMD 0.09 mg/kg	MMC 1 mg/kg	第1群	第2群	第3群	第4群	第5群
分 裂 係 数 %	3.3	2.0	1.3	0.9	1.0	0.8	0.7	0.7
細 胞 数 × 10 <sup>6</sup>	4.81	3.24	1.93	1.58	1.40	1.06	0.80	1.12
DNA μg × 10 <sup>6</sup> cells	2.82	3.02	2.93	2.39	2.60	2.65	2.54	2.39
RNA μg × 10 <sup>6</sup> cells	3.79	2.56	4.16	2.78	2.92	2.68	3.13	3.02
RNA/DNA	1.35	0.85	1.43	1.16	1.11	1.01	1.23	1.26

第1群： MMC 投与後6時間後に AMD を投与した群  
 第2群： MMC 投与後3時間後に AMD を投与した群  
 第3群： MMC と AMD を同時に投与した群  
 第4群： AMD 投与後3時間後に MMC を投与した群  
 第5群： AMD 投与後6時間後に MMC を投与した群

第1群： MMC 投与後6時間目に AMD を投与した群

第2群： MMC 投与後3時間目に AMD を投与した群

第3群： AMD と MMC を同時に投与した群

第4群： AMD 投与後3時間目に MMC を投与した群

第5群： AMD 投与後6時間目に MMC を投与した群

腫瘍細胞の分裂係数は非投与群においては3.3%であり、単独投与群においてMMCの場合1.3%, AMDの場合2.0%であつて、低下している。併用群において分裂係数の低下は単独投与の場合よりさらに著しく、非投与群のその1/3~1/4程度になつている。しかし、各併用群間に著しい差異はみとめられず、ただ第4および第5群で分裂係数の最低値を示したが他群との間に有意の差があるとはみられない。

腹腔内腫瘍細胞数はAMD単独投与の場合非投与群のその67%に減少し、MMC単独投与の場合、40%に減少した。併用した群の場合、16.6%~33.0%となりさらに顕著に減少した。中でも同時併用群、AMD投与後3時間後にMMCを投与した群において最も減少した。

(c) AMD, MMC 併用療法の場合の腫瘍細胞の核酸含量, および核酸代謝の変化 (表18, 19, 図13)

核酸含量は薬剤投与後36時間目の腫瘍細胞について検討された。AMD投与によつて腫瘍細胞のRNA含量は減少し、MMC投与によつて腫瘍細胞のRNA含量は増加することは実験Iで述べられている。AMD単独投与の場合、腫瘍細胞のRNA量は非投与群のその68%に低下し、MMC投与の場合、非投与群のその105%に増加している。両薬剤は腫瘍細胞の

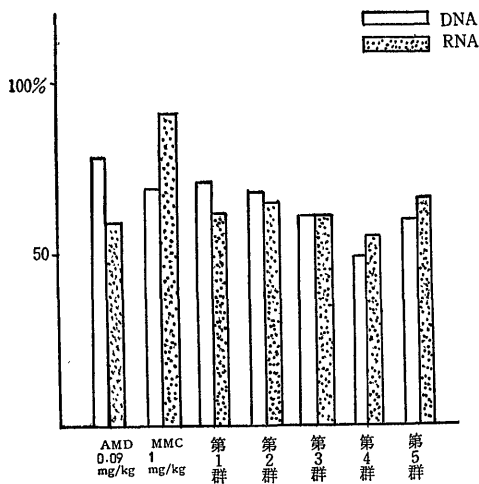
表19 腹水腫瘍に対する AMD と MMC との併用. 腫瘍細胞の核酸代謝  
 $C^{14}$ -orotic acid の incorporation と  $H^3$ -thymidine の incorporation SN-36

	対 照	AMD 0.09 mg/kg	MMC 1.0 mg/kg	第 1 群	第 2 群	第 3 群	第 4 群	第 5 群
DNA 比放射能 *	1143	895	792	814	781	701	561	686
RNA 比放射能 *	6237	3675	5687	3873	4062	3805	3440	4179
labeled cell %	43.3	36.0	31.5	30.0	25.0	25.5	20.2	26.0
細胞当たりの銀粒子数	41.8	28.8	14.7	6.3	5.5	5.2	3.7	5.1

\*  $\frac{c.p.m}{DNA \text{ (または RNA) mg}}$

群の説明は表18に同じ.

図13 腹水腫瘍に対する AMD と MMC との併用  
 腫瘍細胞の核酸代謝  
 ( $C^{14}$ -orotic acid の incorporation)  
 (SN-36)



DNA 量にはとくに影響を及ぼさなかつた。両薬剤を併用した場合腫瘍細胞の DNA, RNA 含量とも非投与群のそれに比し低い値を示した。すなわち DNA 含量は非投与群のそのの 94~84%に低下し, RNA 量は 67~74%に低下を示した。併用群間の差異は著しくない。ただ, 第 4 群, および第 5 群においては後に投与した MMC の作用が強く現われているようである。

腫瘍細胞の核酸代謝は薬剤投与後36時間目の変化について *in vivo* で orotic acid- $C^{14}$  の incorporation によつて観察された。orotic acid は核酸中 pyrimidine 塩基として, 主として, RNA に取りこまれるが, 一部 DNA pyrimidine にはいることが知られている。 $C^{14}$ -orotic acid incorporation によつて検索された腫瘍細胞の核酸分画の比放射能は表に示したごとく, AMD, MMC 単独投与の場合, 実験 I で  $P^{32}$  を用いて検索された結果とほぼ一致し, AMD は腫瘍細胞の RNA 代謝を非投与群のそのの59%に強く障害

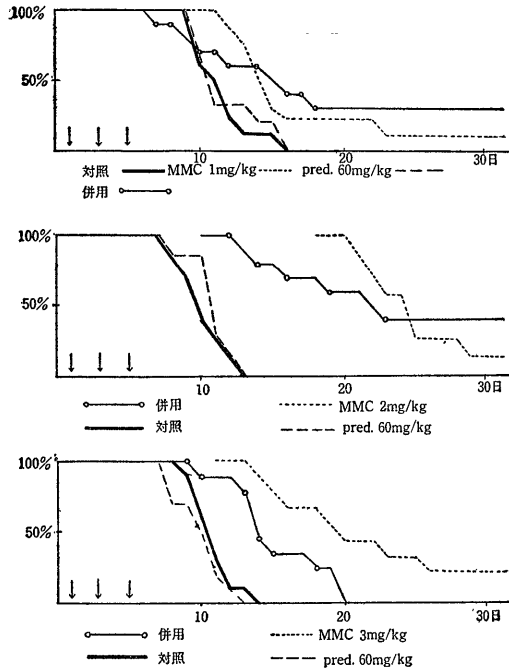
し, MMC は DNA 代謝を69.2%にとくに強く障害した。併用投与した場合, 腫瘍細胞の RNA, DNA 代謝とも単独投与の場合よりさらに著しい低下をきたした。すなわち, 腫瘍細胞の DNA への incorporation は非投与群のそのの49~68%, RNA への incorporation は 55~67% に低下した。併用群間の差異をみると DNA 代謝は第 4 群において最も強く障害され, 非投与群のそのの49%になつており, 次いで, 第 5, 第 3, 第 2, 第 1 群の順に DNA 代謝障害の程度は軽くなつてい。 RNA 代謝は第 4 群において最も強く障害され, 非投与例のそのの55%となつてい。したがつて第 4 群, すなわち, AMD 投与後 3 時間後に MMC を投与した場合に腫瘍細胞の核酸代謝は最も強く障害されることを知つた。さらに, 腫瘍細胞の DNA 代謝の変化を *in vivo* における  $H^3$ -thymidine の核内へのとりこみから観察した。薬剤投与後36時間目に  $H^3$ -thymidineを投与し autoradiograph を作製した(写真6, 7, 8, 9)。全腫瘍細胞数に対する labeled cell の比率は非投与例で43.3%であり, AMD および MMC の単独投与群において, それぞれ36.0%, 31.5%であつた。両薬剤併用群において20.2~30.0%であり, 著しく減少している。併用群間の比較では第 4 群において顕著な減少 (20.2%) をみとめ, 第 1 群においては MMC 単独投与群のそれに比べ著しい差を示すことはなかつた。腫瘍細胞 1 個当たりの銀粒子の数により比較すると, 薬剤投与例において減少し, ことに併用群における減少は著しい。すなわち, 非投与群の腫瘍細胞 1 個当たりの銀粒子数は 41.8 であり, AMD, MMC 単独投与した場合それぞれ28.8, 14.7 であり, 併用投与の場合3.7~6.3であつて顕著な減少を示した。この腫瘍細胞当たりの銀粒子の変化は  $C^{14}$ -orotic acid を用いた場合の変化とはほぼ一致する。併用群間の比較では第 4 群において最低値を示し, 3.7 であり, 第 1 群において最高の 6.3 を示した。いずれの方法でも第 4 群における強い DNA 代謝障害がみられ, 第 4 群でとられた併用方法の有効性を物語る

ものである。また第5群における腫瘍細胞のDNA代謝は同時併用群におけるそれと明らかな差がみとめられない。

2) 腹水腫瘍に対する MMC と prednisolone との併用

(a) 腫瘍動物の生存日数および体重の変化 (表20、図14)

図14 腹水腫瘍に対する MMC と prednisolone との併用の生存日数に及ぼす影響 (SN-36)



腫瘍動物に対し prednisolone の 60 mg/kg を投与した。また、MMC の 1, 2, 3 mg/kg を分けて投与した。薬剤非投与群の動物はすべて7~15日の間に腫瘍死し、その平均生存日数は 10.7, 9.4, 10.0 日であった。MMC 単独投与の場合腫瘍動物の平均生存日数は 18.2~25.1 日であり、非投与群のそれに比べ有意の延長をみとめ、投与量に比例して生存日数の延長も大きくなり、中に50日生存例もみられた。MMC 投与後の腫瘍動物の体重減少率も投与量に比例して大きく、3 mg/kg 投与時の体重減少率は -4.6% であつた。prednisolone のみを使用した場合、腫瘍動物の平均生存日数の延長は全くみられず、かえつて、生存日数の短縮がみとめられた場合もある。また prednisolone 投与時の腫瘍動物の体重減少率は大きく -5.0~-9.2% を示した。prednisolone と MMC との両者を併用すると腫瘍動物の平均生存日数は明らかに延長し、50日生存例も prednisolone 60 mg/kg に MMC 1 mg/kg を併用した場合10匹中2匹に、prednisolone 60 mg/kg, MMC 2 mg/kg を併用した場合10匹中3匹にみとめられた。しかし MMC 3 mg/kg と prednisolone 60 mg/kg を併用した場合には動物の体重減少は -12.8% となり、平均生存日数も MMC 単独 3 mg/kg 投与時のそれに比べ短く、

表20 腹水腫瘍に対する MMC と prednisolone との併用腫瘍動物の延命効果および体重の変化 SN-36

MMC mg/kg	pred. mg/kg	体重変化率* %	生存日数	平均生存日数**	50日生存数
0	0	+16.1	9~15	10.7	0/8
1	0	+ 3.3	11~	18.2以上	1/9
0	60	- 5.0	9~15	11.1	0/9
1	60	-8.33	6~	23.0以上	3/10
0	0	+13.2	7~12	9.4	0/7
2	0	0	18~	26.5以上	1/7
0	60	- 8.9	7~12	10.0	0/7
2	60	-10.5	12~	29.0以上	2/10
0	0	+15.4	8~13	10.0	0/10
3	0	- 4.6	13~	25.1以上	2/9
0	60	- 9.2	7~12	9.2	0/10
3	60	-12.8	9~19	14.3	0/9

\* 薬剤投与終了翌日の体重の変化率

\*\* 50日以上生存したものは50日生存として計算

しかも、すべて死亡した。これは薬剤の過量投与による宿主に対する障害のためと考えられる。ただ、このような例は MMC 1 mg/kg, または 2 mg/kg と prednisolone 60 mg/kg を併用した場合、早期に死亡した例にみられている。したがって、薬剤の腫瘍細胞の増殖に対する抑制効果の増大とともに宿主に及ぼす副作用もかなり増大するものと考えなければならない。

(b) MMC, prednisolone 併用療法の場合の腹腔内腫瘍細胞数並びに分裂係数の変化 (表21, 22, 図15, 16)

腫瘍動物に MMC 2 mg/kg, prednisolone 60 mg/kg を投与後の腹腔内腫瘍細胞数の変化を継続的に観察した結果が (表22, 図16) である。prednisolone 単独投与の場合、腹腔内腫瘍細胞数はほとんど変化しない。また、この場合肉眼的に検索した範囲では遠隔転移、腫瘍形成はみられない。一方 MMC 単独投与後 24時間, 48時間の腹腔内腫瘍細胞数は非投与例のその74%, 53% となり、減少を示した。prednisolone と MMC とを併用した場合には、さらに腹腔内腫瘍細胞数の減少度は大であり投与後48時間目には非投与群の細胞数の46%であった。MMC の投与量を種々変えて投与し、その後48時間目の腫瘍細胞数、および分裂係数を観察した結果が (表21, 図15) に示されている。MMC 2 mg/kg, または 3 mg/kg と prednisolone 60 mg/kg を併用した場合、顕著な腫瘍細胞数減少をみとめた。とくに、prednisolone と MMC 3 mg/kg とを併用した場合非投与例の腫瘍細胞数の 20.8% に減少した。分裂係数も併用群においては一般に低値を示し、腫瘍細胞数の結果とはほぼ一致した。副作用の

図15 MMC と prednisolone との併用の腹腔内腫瘍細胞数に及ぼす影響 (SN-36)

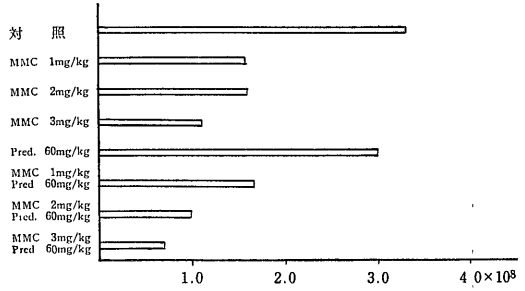


図16 腹水腫瘍に対する MMC と prednisolone との併用の腫瘍細胞数に及ぼす影響 (SN-36)

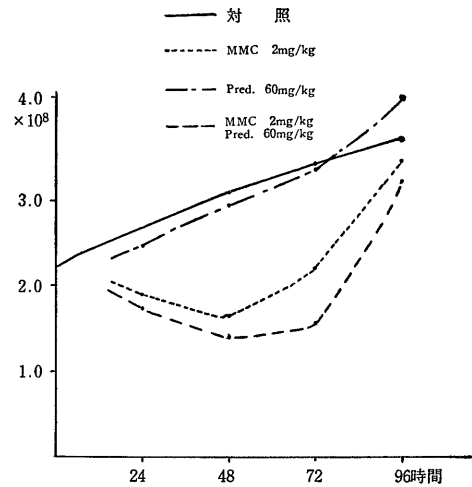


表21 腹水腫瘍に対する MMC と prednisolone との併用腫瘍細胞の核分裂係数および腹腔内腫瘍細胞数 (投与後48時間) SN-36

	対 照	MMC 1 mg/kg	MMC 2 mg/kg	MMC 3 mg/kg	pred. 60 mg/kg	MMC 1mg pred.	MMC 2mg pred.	MMC 3mg pred.
分裂係数 %	2.60	1.84	1.80	0.91	2.55	1.60	1.00	0.93
細胞数 × 10 <sup>8</sup>	3.31	1.57	1.58	1.08	3.02	1.66	0.98	0.69

表22 腹水腫瘍に対する MMC と prednisolone との併用腫瘍細胞数に及ぼす影響 (×10<sup>8</sup> 個) SN-36

	投 与 前	24 時 間	48 時 間	72 時 間	96 時 間
対 照 群	2.24	2.59	3.12	3.36	3.77
MMC 2mg/kg		1.92	1.66	2.23	3.55
pred. 60mg/kg		2.47	2.94	3.39	4.03
併 用 群		1.78	1.43	1.58	3.32



表23 腹水腫瘍に対する MMC と prednisolone との併用  
腫瘍細胞の核酸含量並びに核酸代謝 (投与後48時間)

SN-36

	対 照	MMC 2 mg/kg	Pred. 60 mg/kg	MMC Pred.
DNA $\mu\text{g} \times 10^6$ cells	2.63	2.72	2.36	2.92
RNA $\mu\text{g} \times 10^6$ cells	3.21	4.99	3.04	4.45
RNA/DNA	1.22	1.83	1.28	1.52
DNA 比放射能 *	1310	960	1128	572
RNA 比放射能 *	2643	2382	2221	1434

$$* \frac{\text{c.p.m.}}{\text{p } \mu\text{g}}$$

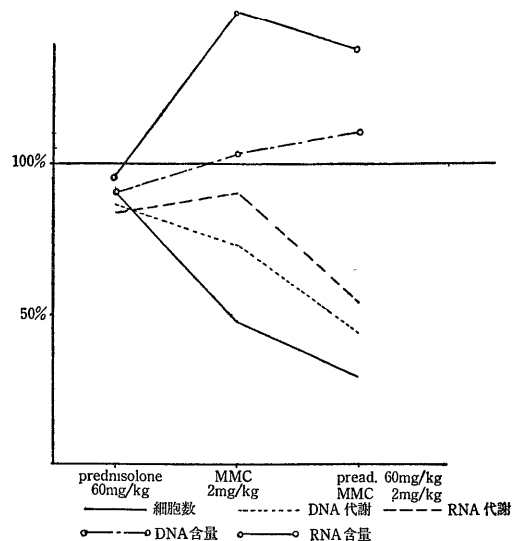
点を別とすれば prednisolone MMC との併用の有効性がみとめられるわけである。

(c) MMC, prednisolone 併用療法の場合の腫瘍細胞の核酸含量および核酸代謝の変化 (表23, 図17)

MMC 2 mg/kg, prednisolone 60 mg/kg を腫瘍動物の腹腔内に投与して48時間後に腫瘍細胞の核酸含量および核酸代謝を観察すると, MMC 単独投与群においては腫瘍細胞の RNA 含量は非投与群のその150% となり, 明らかに増加するが, DNA 含量はほとんど変化しない。また prednisolone 単独投与群においては腫瘍細胞の RNA, DNA 量ともそれぞれ非投与群のその95%および90%となり軽度の減少を示した。prednisolone と MMC との併用群においては逆に腫瘍細胞の DNA, RNA 量とも110%, 138%の増加を示した。しかし, DNA の量に関しては有意の変化とはいいがたい。薬剤投与後48時間目の腫瘍細胞を取り出し, 実験 I と同様に  $\text{P}^{32}$  を作用させ核酸への incorporation をみると, prednisolone 単独投与群においては DNA, RNA へのとりこみは非投与例のその96%および90%を示し, 軽度低下がみとめられる。MMC 単独投与群においては腫瘍細胞の DNA への  $\text{P}^{32}$  とりこみは強く抑制され (73%), RNA への  $\text{P}^{32}$  のとりこみは軽度の低下 (90%) を示したにすぎなかった。prednisolone と MMC との併用群においては腫瘍細胞の DNA, RNA へのとりこみは顕著に低下し, それぞれ非投与群のその54%, 44%になっている。すなわち, 各々の薬剤の単独投与の場合に比べはるかに大きい抑制効果がみられた。

以上の結果より, MMC と prednisolone との併用は腹腔内腫瘍細胞数を各々の単独投与の場合より顕著に減少させ, 腫瘍細胞の増殖に重要な位置を占める核酸代謝を顕著に抑制し, 少なくとも細胞 level では相乗的效果をもたらすものといえる。ただ, 腫瘍動物の延命効果において, prednisolone の使用量の関係で満足した結果が得られず, 早期に死亡する例がみられ

図17 腹水腫瘍に対する MMC と prednisolone との併用の腹腔内腫瘍細胞数, 腫瘍細胞の核酸含量, 核酸代謝に及ぼす影響 (SN-36)



た。

3) 腹水腫瘍に対する AMD と prednisolone との併用

(a) 腫瘍動物の生存日数の変化 (表24, 図18)

腫瘍動物に対し AMD 0.03-0.06 mg/kg, prednisolone 20-60 mg/kg を投与した。非投与群の動物の生存日数は8~14日の間にあり, その平均生存日数は9.7~10.2日であつた。移植マウスはすべて腫瘍死した。AMD を単独投与した場合の腫瘍動物の延命効果は実験 I および II 1) (a) におけると同様であり, 0.03 mg/kg 投与の場合には非投与群のそれと大差なく, 0.06 または 0.09 mg/kg 投与の場合, 動物の平均生存日数は13.7~22.9日となり, 延長をみる。投与量 0.09 mg/kg の群においては延命効果も大であつた。prednisolone 単独投与群においては生存日数に

著しい変化がみられない。むしろ短縮する場合もみられた。AMD と prednisolone とを併用して、AMD 0.03mg/kg, prednisolone 20mg/kg または AMD 0.06mg/kg, prednisolone 40 mg/kg を投与した場合、AMD 単独投与の場合よりも動物の平均生存日数は延長し、それぞれ 13.5 日、23.2 日を示した。しかし、AMD 0.09 mg/kg と prednisolone 60 mg/kg との併用をした場合、動物は羸瘦著しく早期に死亡する例があり、平均生存日数は AMD 0.09 mg/kg 単独投与群のそれに比べ延長しない。体重の減少も、AMD prednisolone の投与量が大きくなると著しくなり、AMD 0.09 mg/kg, prednisolone 60 mg/kg 併用群において最も著しい減少 (-13.7%) を示した。

(b) AMD, prednisolone 併用療法の場合の腹腔内腫瘍細胞数の変化 (表25. 図19)

腫瘍動物に薬剤を投与した後継時的に腹腔内腫瘍細胞数の変化を観察した。prednisolone 単独群においては 20 mg/kg を投与した場合、腫瘍細胞数は非投与群のそれとほとんど変わらない。prednisolone 40 mg/kg または 60 mg/kg 投与群においては腫瘍細胞数は減少を示さないが、増加率も低い。AMD 0.09 mg/kg 単独投与の場合、腫瘍細胞数の減少は投与後 48時間目に最も著しくなり、非投与群のその54%であった。AMD 0.06 mg/kg 投与の場合、腫瘍細胞数の減少はより軽度であり、AMD 0.03 mg/kg 投与の場合非投与群のそれとの間に差をみとめなかつた。AMD と prednisolone との併用投与群においては投

与後24時間、48時間に腫瘍細胞数は減少し、薬剤の投与量が大きいものに減少が著しく、AMD 0.09 mg/kg prednisolone 60 mg/kg 併用投与群においては投与後48時間で非投与群のその33%になっている。しかし、これらの結果は MMC と prednisolone を併

図18 腹水腫瘍に対する AMD と prednisolone との併用の腫瘍動物の生存日数に及ぼす影響 (SN-36)

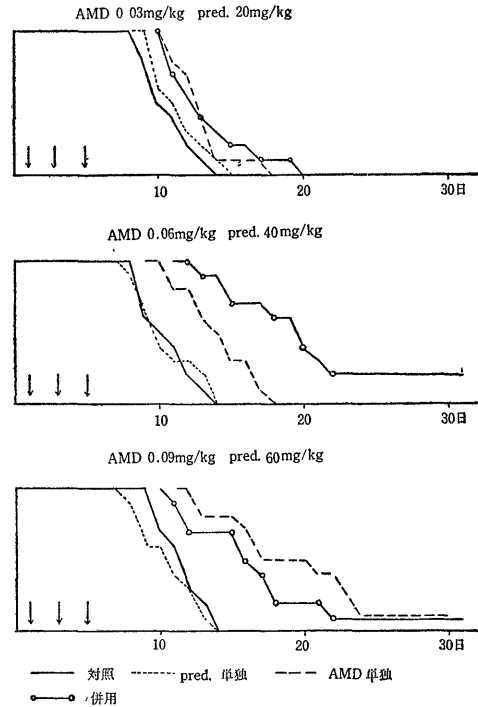


表24 腹水腫瘍に対する AMD と prednisolone との併用腫瘍動物の生存日数および体重の変化 SN-36

AMD mg/kg	pred. mg/kg	体重変化率 *	平均生存日数**	生存日数	50日生存数
0	0	+12.8	10.2	8~13	0/10
0	20	+ 3.1	10.7	9~14	0/10
0.03	0	+ 5.2	12.3	10~18	0/10
0.03	20	+ 2.1	12.7	10~20	0/10
0	0	+13.7	9.8	8~14	0/10
0	40	- 7.3	9.7	7~14	0/10
0.06	0	- 3.9	13.4	10~18	0/10
0.06	40	-10.8	23.6以上	12~	2/10
0	0	+15.0	10.8	9~14	0/10
0	60	- 9.5	9.9	7~14	0/10
0.09	0	- 7.5	20.8以上	12~	1/10
0.09	60	-13.7	18.3以上	10~	1/10

\* 薬剤投与終了後翌日の体重変化率

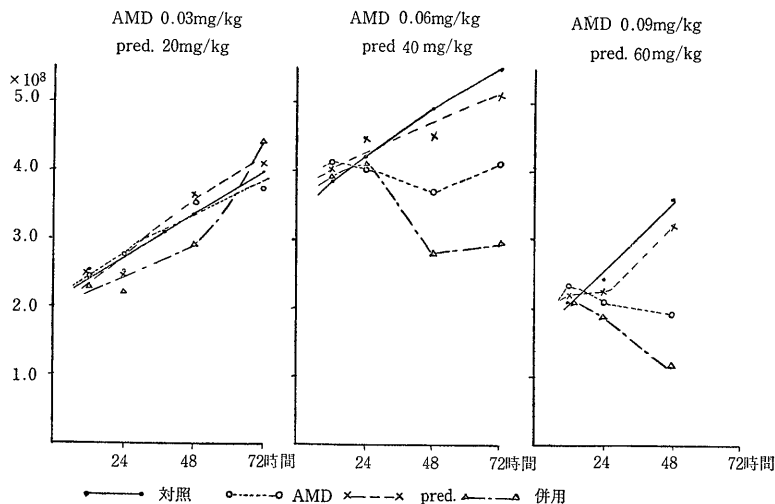
\*\* 50日以上生存したものは50日として計算した。

表25 腹水腫瘍に対する AMD と prednisolone との併用  
腹腔内腫瘍細胞数に及ぼす影響

SN-36

AMD	pred.	12 時間	24 時間	48 時間	72 時間
0 mg/kg	0 mg/kg	2.51	2.50	3.32	3.98
0.03	0	2.42	2.73	3.51	3.74
0	20	2.48	2.44	3.65	4.10
0.03	20	2.30	2.21	2.90	4.41
0	0	3.85	4.20	4.81	5.50
0.06	0	4.10	4.01	3.72	4.10
0	40	4.01	4.45	4.50	5.12
0.06	40	3.93	4.11	2.80	2.96
0	0	2.10	2.43	3.63	
0.09	0	2.32	2.11	1.94	
0	60	2.23	2.25	3.21	
0.09	60	2.20	1.90	1.20	

図19 腹水腫瘍に対する AMD と prednisolone との併用の腹腔内腫瘍細胞数に及ぼす影響 (SN-36)



用投与した場合の減少度に比べると軽度であった。

(c) AMD, prednisolone 併用療法の場合の腫瘍細胞の核酸量の変化 (表26, 図20)

腫瘍動物に prednisolone を単独投与した場合、腫瘍細胞の RNA 量に軽度の減少をみとめたが、DNA 量の変化はみとめない。AMD を単独投与した場合、腫瘍細胞の RNA 量は投与後24時間、48時間で非投与群のそれの40%~70%になり、顕著に低下している。この場合にも DNA 量は非投与群のそれとの間に差を示さなかった。AMD と prednisolone とを併用投与した場合腫瘍細胞の DNA 量は変化を示さないが、RNA 量は AMD 単独投与群のそれよりはるかに低下し、32%~40%の低値を示した。とくに、両薬剤を大

量に用いた場合に腫瘍細胞の RNA 量の低下が顕著であった。このことは RNA 代謝が主として強く障害されていることを示すものといえる。

#### 総括並びに考察

1) AMD と MMC の腹水腫瘍に及ぼす影響について

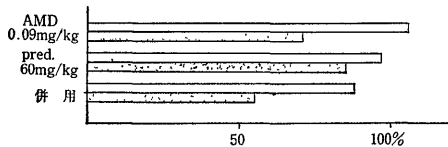
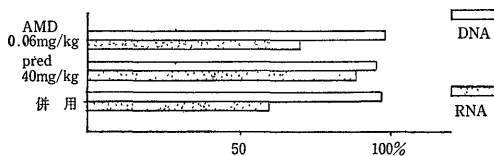
actinomycin は 1940 年 Waksman と Woodruff<sup>65)</sup>により放線菌より分離された最初の抗腫瘍性を持つ抗生物質であり、その後多くの actinomycin 群が分離され検討された。そのうち、比較的新しく発見され、かつ、抗腫瘍性の高い AMD の実験腫瘍に対する効果については、Ehrlich 腹水癌、Sarcoma 180 な

表26 腹水腫瘍に対する AMD と prednisolone との併用  
腫瘍細胞の核酸含量に及ぼす影響 ( $\mu\text{g} \times 10^6 \text{ cells}$ )

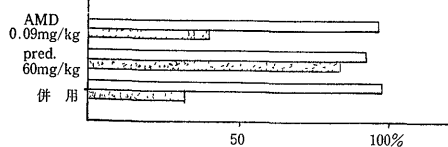
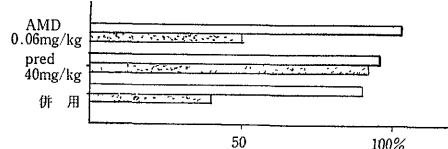
SN-36

AMD mg/kg	pred. mg/kg	24 時間		48 時間	
		D N A	R N A	D N A	R N A
0	0	2.57	3.20	2.38	3.34
0.06	0	2.51	2.25	2.50	1.65
0	40	2.43	2.82	2.28	3.04
0.06	40	2.48	1.93	2.14	1.32
0	0	2.01	3.03	2.68	3.52
0.09	0	2.12	1.98	2.49	1.39
0	60	1.81	2.37	2.47	2.89
0.09	60	1.77	1.54	2.60	1.12

図20 腹水腫瘍に対する AMD と prednisolone との併用の腫瘍細胞の核酸含量に及ぼす影響  
投与後24時間 (SN-36)



投与後48時間



どの種々の腹水腫瘍に対して、その増殖抑制効果が報告されている<sup>5)12)13)</sup>。臨床的にも Hodgkin 氏病などの悪性リンパ腫に対する効果がみとめられている<sup>17)40)</sup>。その作用機序については AMD は DNA guanine と結合し、DNA を primer とする RNA polymerase を阻害することがほぼ明らかとなっている<sup>9)38)39)</sup>。

一方、mitomycin は秦<sup>14)58)</sup>らにより1955年 *Streptomyces caespitosus* の培養液より分離され、若木<sup>64)</sup>らにより同培養液より MMC が単離された。Sugiyura<sup>59)</sup>はその実験腫瘍に対する広汎な抗腫瘍性を

報告し、臨床的にも今日最もよく使用されその効果がみとめられているものの一つである。作用機序に関しては芝<sup>51)</sup>らの DNA の polymerization を阻害するとするものと、Reich<sup>40)41)83)</sup>らの DNA の depolymerization を促進するとする2つの意見に分かれている。

さて、著者の行なつた実験の結果において、MMC 投与後の腫瘍細胞増殖に対する抑制効果を検討するに、腫瘍細胞の DNA 代謝は MMC 投与後3時間ですでに低下し、腫瘍細胞の分裂係数の減少もほとんど同時に始まり、腹腔内腫瘍細胞数の減少も MMC 投与後6時間ですでにみとめられ、腫瘍細胞の変性、崩壊は MMC 投与後5時間目ころから起こることを知つた。また、腫瘍細胞の RNA 代謝も MMC 投与後6時間以後に軽度に低下した。すなわち、まず腫瘍細胞の DNA 代謝機構に異常が起こり、腫瘍細胞分裂係数の低下、腫瘍細胞数の減少、腫瘍細胞の変性崩壊、腫瘍細胞の RNA 代謝低下という形で薬剤の腫瘍に対する抑制効果が現われてくるのである。要するに MMC の抗腫瘍作用における primary action は DNA に対する抑制作用にあるということが出来る。Schwartz<sup>48)</sup>らはラットの腸管粘膜、骨髄、胸腺に対する MMC の作用を検討し、 $\text{H}^3$ -thymidine の細胞の DNA へのとりこみ、および細胞分裂係数の急激な低下をみとめ、MMC はまず DNA 合成抑制に作用するとし、芝<sup>51)</sup>も Ehrlich 腹水癌について検討し、MMC 投与後3時間目から DNA への  $\text{H}^3$ -thymidine のとりこみが急激に低下することを観察し、その時の腫瘍細胞の RNA 代謝、蛋白代謝はほとんど障害されないと述べている。Sarcoma 180 を用いて行なつた著者の実験の結果もそれと一致するが、しかし、MMC の作用が腫瘍細胞の DNA 合成阻害にあるのか、DNA の分解の促進にあるのかは明らかでない。とにかく、MMC

は腫瘍細胞増殖に対し急速に抑制効果を示すことを確かめ得たのである。

AMD 投与後の変化について考察するに、まず、腫瘍細胞の RNA 代謝の低下、RNA 含量の減少が AMD 投与後 3 時間目に観察され、腫瘍細胞の DNA 代謝の抑制は AMD 投与後 3 または 6 時間で全くみられず、12 時間でみとめられるようになる。腫瘍細胞の分裂係数の低下、腫瘍細胞変性は AMD 投与後 7 ないし 9 時間でみられ、それに遅れて腹腔内腫瘍細胞数の減少が起こる。腫瘍細胞の蛋白代謝は AMD 投与後 6 時間で軽度低下する。したがって、AMD の作用機転として腫瘍細胞の RNA 代謝の低下がまず起こり、これに伴って蛋白代謝低下が発現する。かくして細胞内諸種代謝機構の平衡が乱れる結果として腫瘍細胞の変性、腫瘍細胞の DNA 代謝の低下、細胞分裂係数の減少、腫瘍細胞数の減少が起こるものと考えられる。また、AMD は腫瘍細胞の内因性呼吸、嫌気性解糖のごとき energy 代謝に対してはほとんど影響を与えない。さらに、AMD を投与した場合、初期に腫瘍細胞数の増加する特異な変化がみられた。すなわち AMD 投与後 6 時間、12 時間に腹腔内腫瘍細胞数が非投与群のそれに比し増加していることである。この初期の腫瘍細胞増加の現象を細胞分裂係数の面からみると、細胞分裂係数は AMD 投与後 3、5 時間でわずかに上昇するが腫瘍細胞数の増加とはその程度において一致しない。これは細胞分裂係数そのものが小さい値なので、腫瘍細胞数においてみられた増加現象のように明らかに識別し得なかつたものと考えられる。また、AMD 投与後 12 時間には細胞分裂係数は低下しているが腫瘍細胞数は増加している。AMD 投与後 6 時間の腫瘍細胞分裂像のうち prophase の占める割合が多いので腫瘍細胞数の増加が細胞分裂係数のそれに遅れて現われてきているものと考えられる。しかし、腫瘍細胞の変性が AMD 投与後 9 時間ごろからみられるので、増加した細胞の中にはすでに変性を起こし、増殖機能を持たないものが相当含まれていると考えられる。さらに、核酸代謝の面から考察するに腫瘍細胞の RNA 代謝は AMD 投与後 3 時間で顕著に低下したが、DNA 代謝は AMD 投与後 3 時間、6 時間において非投与時のそれより亢進を示した。この時期には腫瘍細胞数は増加しているので腫瘍細胞の RNA 代謝は抑制されるにもかかわらず細胞分裂は継続し、しかも亢進していることを示している。

Wheeler<sup>68)</sup>らは細菌を用いた実験において C<sup>14</sup>-formate を用いた場合、細菌体の DNA、RNA への転入は AMD 投与により阻害される。しかし C<sup>14</sup>-

hypoxanthine を用いて purine 合成の面よりみた場合、DNA への転入は非投与群より著しく増加し、その原因として RNA 合成阻害のため pool された nucleotide が RNA 合成より DNA 合成の方へ転換するためであると述べている。Schwartz<sup>48)</sup>らは正常ラットに AMD の LD<sub>50</sub> 量を投与すると、腸管粘膜における細胞分裂係数および H<sup>3</sup>-thymidine の DNA へのとりこみの抑制は一定の latency の下に現われてくる。すなわち、投与初期においては H<sup>3</sup>-thymidine の DNA へのとりこみは非投与群と変わらない。また、C<sup>14</sup>-formate を用いて de novo の核酸合成を検討したところでは Wheeler らの結果と同様にその DNA、RNA へのとりこみは AMD の投与により抑制されると述べている。著者の実験の場合と比較すると、AMD の使用量は非常に多い。AMD の大量投与は細胞の DNA polymerase も抑制するといわれている<sup>47)</sup>。また、彼らの実験においては対象が正常組織であり、著者の実験における対象が腫瘍細胞である点も異なるのである。著者は AMD 投与時の細胞の DNA 代謝亢進の機序として、細胞の RNA 代謝の低下、細胞内 RNA 量の急激な著しい減少が関係していると考え、細胞の RNA 量を減少せしめる RNase を腹腔内に投与し、腫瘍細胞の核酸代謝、とくに DNA 代謝の変化を観察した。RNase は細胞内に入り、発育の盛んな細胞ではその RNA 量を減少させるといわれている<sup>54)</sup>。著者の RNase 投与実験によれば腫瘍細胞内 RNA 量の低下は軽度であり、腫瘍細胞数はほとんど変化を示さない。また、腫瘍細胞の DNA 代謝においては RNase 投与後 6 時間に非投与群のそれに比べ軽度の亢進をきたした。この RNase の結果は AMD 投与時の変化と共通する点がある。Shah<sup>49)</sup>らは hamstar cell の組織培養で RNase を投与した場合、その初期において H<sup>3</sup>-thymidine の核内へのとりこみが亢進すると述べている。その作用機序として RNA は DNA 代謝調節機構に repressor として参加するが、RNase は RNA と結合することによりその repressor としての機能を低下させることを考えている。著者の実験においてみとめられた DNA 代謝亢進は、RNase と AMD との作用の共通点であり、これは RNA 含量の低下に関するものと考えられる。しかし、その場合 repressor として作用する RNA の機能低下によるものか、または、RNA 代謝抑制に基づく nucleotide の蓄積によるものかは明らかでない。さらに AMD と RNase の作用の共通性についての検索においては、Coleman<sup>4)</sup>らは B. subtilis に対し低濃度の AMD を作用させ RNase 活性を上昇せしめ

たと述べ、また、Planelles<sup>35)</sup> は低濃度の AMD はモルモットの血中 17 OHCS を増加させる作用があると報告している。副腎皮質 hormone は RNase の活性を上昇させることも知られている<sup>28)</sup>。したがって、AMD 投与後 RNase 活性が上昇し両者の間に共通効果が発現されたと考えることもできる。

## 2) 併用化学療法について

併用化学療法の目的は 2 種以上の薬剤を用い、個々の薬剤単独では得られない相乗効果——いわゆる **therapeutic synergism**——を得ようとするところにあり、同時に、副作用をも軽減し、薬剤耐性の問題をも解決しようとするところにある。相乗効果発現の機構に関し、Potter<sup>37)</sup> は **sequential blocking** という言葉を用い、2 種以上の薬剤が同一代謝系の異なった反応の場に作用し、その際、最初の反応が block されることにより次の反応が一層 block されやすくなると述べ、Elion<sup>6)</sup> は **concurrent blocking** という表現を用い同一終末産物に至る 2 つ以上の代謝経路のそれぞれの部分を同時に block することにより相乗効果を得ると述べている (図21)。また、最近 Sartorelli<sup>42)</sup> は AMD と RNase との併用で両薬剤が互いに作用を補足し合うという意味で **complementary inhibition** という言葉を使用している。いずれにせよ併用療法はいろいろな代謝経路のできるだけ多くの部分を block しようとするものである。これは理論的には妥当であるが、悪性腫瘍細胞自身宿主の細胞より発生し、その性質も宿主細胞と類似しているので効果が増大すればそれだけ副作用も増大するのではないかとの危惧も生ずるわけである。

(i) 腹水腫瘍に対する AMD と MMC との併用療法について

ここに著者が腹水腫瘍に対する AMD と MMC との併用療法を試みた一つの理由は、両者の作用機序の差異から併用することにより腫瘍細胞の核酸の合成を DNA および RNA の両面から同時に抑制し、いわゆる **concurrent** な作用により相乗効果を得ようと

期待した点にあり、他の一つの理由は実験 I において AMD が一時的に腫瘍細胞の DNA 代謝を亢進させることが判明したので、その時期に DNA 代謝阻害剤である MMC を作用させれば一層抗腫瘍効果を高め得るのではないかと考えた点にある。実験結果において腫瘍動物の生存日数は AMD, MMC 併用群では各単独群にまさり著しく延長し、完全治癒の例さえ多くみられた。一方、薬剤の大量投与の場合動物の体重の減少は顕著であり、早期に死亡する例がみられたので、宿主に対する副作用の増大も顕著であるといわねばならない。その結果、薬剤投与に際して腫瘍細胞数の減少および腫瘍細胞の核酸代謝の低下と動物の延命効果とが必ずしも平行しないのである。腫瘍細胞の核酸含量の変化については AMD, MMC 併用を行なった 5 群において各単独投与の結果を相加平均したような値を示し、RNA 代謝が顕著に低下したにもかかわらず RNA 量がそれほど低下しないのは、この両剤の併用によつて細胞分裂がより強く抑えられるため RNA の細胞内蓄積が起こる結果と考えられる。

さて、AMD と MMC との併用療法において、その両薬剤の腫瘍細胞に対する投与時間の関係はこの併用療法の効果に重大な影響を与えている。すなわち、AMD 投与後 3 時間に MMC を投与した場合、腫瘍細胞数の減少、分裂係数の低下および核酸代謝の抑制の面から観察して **synergistic** な顕著な抗腫瘍性効果を得たが、同時併用および AMD 投与後 6 時間に MMC を投与した場合や AMD 投与前に MMC を投与した場合には、相加的あるいは補助的効果が得られたにすぎなかつた。山下<sup>70)</sup>らは **Sarcoma 180** に対する **actinomycin A** と X 線療法との併用実験で **actinomycin A** 投与後 1 時間目に X 線を照射した場合と、その逆に X 線照射後 **actinomycin A** を投与した場合とを比較して、前者に担癌動物の生存日数の顕著な延長をみとめ、**actinomycin A** に X 線療法の効果を増大させる作用のあることを報告している。著者の実験において AMD 投与 6 時間後に MMC を投与した併

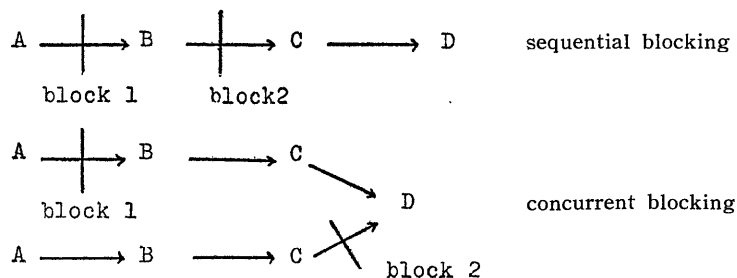


図21 sequential blocking と concurrent blocking

用群において、相加的な抗腫瘍性効果をみたにすぎなかつた理由として考えられるのは、AMD 投与後の細胞分裂係数は7時間ごろより低下してくるのでAMD 投与後6時間目にMMC を投与するとDNA 代謝が低下し始めている時期に相当し、MMC の腫瘍細胞へのとりこみが少ないためであろう。またAMD 投与前にMMC を投与した併用群において相加的あるいは補助的抗腫瘍性効果のみがみとめられた理由として、MMC の急速な核酸代謝とくにDNA 代謝に対する低下作用のため、DNA との結合によつて始めて抗腫瘍性を発現するAMD が、腫瘍細胞の核内へとりこまれる率が低くなるのが考えられる。

(ii) 腹水腫瘍に対する副腎皮質 hormone と MMC または AMD との併用療法について

Heilman & Kendall<sup>15)</sup>により副腎皮質 hormone がマウス肉腫に対して抗腫瘍性を持つことが発表されて以来、臨床的にも抗腫瘍剤として注目されてきた。

著者の実験結果においては、prednisolone 投与後のSN-36 移植マウスの生存日数は非投与群のそれと大差なく、この面における、prednisolone の効果はみられなかつた。本剤投与の場合、体重減少の副作用が著しく、このため延命効果がみとめられなかつたものと考えられる。prednisolone 投与後48時間目の腹腔内腫瘍細胞数は軽度の減少を示し、腫瘍細胞の核酸代謝についてDNA, RNA へのP<sup>32</sup> incorporation は低下した。同時に腫瘍細胞のDNA, RNA 含量もともに軽度の減少を示した。副腎皮質 hormone の作用機序については明らかでない点が多いが、石川ら<sup>19)</sup>は吉田肉腫に対し *in vitro* でcortisone がDNA, RNA いずれにもP<sup>32</sup> incorporation を酸可溶性燐化合物以後の段階で抑制することを示し、Lowe<sup>26)27)</sup>はcortisone 投与後のラット肝でDNA, RNA 含量の低下をみとめ、RNA のpolymerization の低下を報告している。MacLeod<sup>28)</sup>らはcortisone は腫瘍組織RNase 活性を上昇させその結果細胞内RNA 含量の低下をもたらすと報告している。

副腎皮質 hormone と他剤との併用に関しては、臨床的に日比野<sup>16)</sup>、山形<sup>70)</sup>、小山<sup>25)</sup>らの副腎皮質 hormone と6MP を併用して急性白血病に対する効果のみとめ、実験的にも副腎皮質 hormone と他剤との併用の効果のみとめた多くの報告がある<sup>24)43)</sup>。著者の実験においてもMMC 単独投与群に比べMMC, prednisolone 併用群の場合腫瘍動物の生存日数は延長し、細胞分裂係数、腹腔内腫瘍細胞数の減少も顕著であつた。また、併用群において腫瘍細胞の核酸代謝とくにDNA 代謝の低下は顕著であり、RNA 代謝も

より阻害され、細胞 level では相乗的抑制効果のみとめた。併用療法の作用機序として、MMC の強力なDNA 合成阻害にprednisolone のRNA 代謝阻害が加わり、concurrent な阻害を起こしたものとする。佐藤<sup>49)</sup>らはEhrlich 腹水癌に対し抗腫瘍剤と副腎皮質 hormone とを併用し、腹水腫瘍細胞数の顕著な減少と腫瘍動物の延命効果とをみとめ、副腎皮質 hormone は腫瘍細胞の増殖を促進し抗癌剤に対する感受性を高めることによるものと推定している。しかし、著者の実験においてはとくにprednisolone の腫瘍細胞増殖を促進する作用はみられなかつた。

また、AMD とprednisolone とを併用した場合、各単独投与群に比し腫瘍動物の平均生存日数は明らかに延長し、これは卜部<sup>62)60)</sup>らのL5178Y に対するcortisone とAMD との併用療法の結果とよく一致するものである。腹腔内腫瘍細胞数もAMD とprednisolone との併用群において、単独投与群にまさる減少をみとめ、腫瘍細胞の核酸含量では併用群においてRNA の著しい低下をみた。この結果よりみてRNA の強い合成阻害、または崩壊が、併用療法群において起こっていると考えられる。

## 結 論

実験腹水腫瘍SN-36, Sarcoma 180 およびEhrlich 腹水癌を腹腔内に移植されたマウスに対してAMD とMMC をそれぞれ1回腹腔内に投与し、継時的に腫瘍細胞に及ぼす影響について、生物学的並びに生化学的に検討し、さらにSN-36 腫瘍細胞を用いて、両薬剤の併用並びに両薬剤とprednisolone との併用の抗腫瘍性効果について検討した。

1) Sarcoma 180 に対しAMD を投与した場合、腹腔内腫瘍細胞数は投与後24時間目に始めて減少し、細胞分裂係数の減少、腫瘍細胞変性は投与後7~9時間目に始めてみとめられた。AMD 投与後6時間、12時間の初期においては腹腔内腫瘍細胞数は増加する傾向を示し、細胞分裂係数も投与後5時間目までは軽度の増加を示した。腹腔内腫瘍細胞に対するAMD の初期効果はEhrlich 腹水癌、SN-36 腫瘍においても同様のみとめられ、とくにEhrlich 腹水癌において顕著であつた。MMC を投与した場合、腹腔内腫瘍細胞数、細胞分裂係数ともに投与早期より減少した。すなわち、MMC の腫瘍細胞に対する抑制効果は迅速に現われるものであり、AMD の抑制効果は一定のlatency を持つて現われ、しかも、AMD 投与初期においては細胞増殖をむしろ促進させる傾向のあることを明らかにし得た。

2) 薬剤の腫瘍細胞の核酸含量, 核酸代謝に与える効果をみるに, AMD 投与時腫瘍細胞の RNA 代謝および RNA 含量は早期より顕著に低下し, DNA 代謝は投与後初期に亢進を示し, 12時間以後低下を示した. MMC 投与時腫瘍細胞の DNA 代謝は早期より顕著に抑制され, DNA 含量は軽度に低下し, RNA 含量は増加した. 両薬剤の腫瘍細胞の核酸代謝に対する効果は両薬剤の腫瘍細胞の生物学的現象に対する効果にはほぼ一致した. 腫瘍細胞の DNA 代謝亢進と RNA 含量低下とは RNase を腹腔内に投与した場合においてもみられ, 腫瘍細胞に対する AMD と RNase との作用に共通性がうかがわれた.

3) AMD は腫瘍細胞の内因性呼吸, 解糖などの energy 代謝系にほとんど影響を与えないが, 腫瘍細胞の蛋白代謝に対しては影響し, 薬剤投与後比較的早期より蛋白代謝を軽度に低下せしめた.

4) SN-36腫瘍細胞に対して AMD と MMC との同時併用療法を行なった場合, 各々の単独療法の場合に比較し, SN-36 移植マウスの生存日数が明らかに延長した. また, AMD を SN-36 移植マウスの腹腔内注射後 3 時間目に MMC を投与した併用群において, 細胞分裂係数の減少, 腹腔内腫瘍細胞数の減少,  $C^{14}$ -orotic acid の核酸への incorporation の低下および  $H^3$ -thymidine の autoradiograph による核酸代謝の低下などが顕著に現われ, 最も強い併用療法の効果をもとめた. DNA 代謝亢進時に MMC を投与する併用方法の有効性を知った.

5) SN-36 腫瘍細胞に対する prednisolone 単独投与は腫瘍動物の生存日数, 腹腔内腫瘍細胞数に何ら変化を与えず, 腫瘍細胞の RNA 並びに DNA 含量の軽度の減少, および核酸代謝とくに RNA 代謝の軽度の抑制をきたした.

6) SN-36 腹水腫瘍に対し MMC と prednisolone とを併用した場合, 腫瘍動物の生存日数は有意に延長し, とくに, MMC 2 mg/kg と prednisolone 60 mg/kg とを併用した場合, 最も顕著に延長した. 腹腔内腫瘍細胞数, 細胞分裂係数は併用群において各単独投与群におけるよりも顕著に減少し, MMC の使用量の多いものほど減少が大であった. 腫瘍細胞の DNA, RNA 代謝とも併用群において単独投与群におけるよりも顕著に低下し, この両薬剤併用投与の有効性を知ることができた.

7) SN-36 腹水腫瘍に対し AMD と prednisolone とを併用した場合, 腫瘍動物の生存日数は AMD 単独投与群のそれより延長し, とくに, prednisolone 40 mg/kg と AMD 0.06 mg/kg とを併用した場

合, 最も著しく延長した. また, 腹腔内腫瘍細胞数の減少は, AMD および prednisolone の投与量の多くなるに従って顕著となつた. 腫瘍細胞の核酸含量とくに RNA 含量の著しい低下をきたし, RNA 代謝の異常が強く起こっていることを示した.

稿を終るに際し, 終始ご懇篤なるご指導ご教諭を忝うした恩師 卜部美代志教授に対し, 衷心から深謝の意を捧げるとともに, ご協力ご援助くださった 綱村史朗博士をはじめ, 教室諸先生に対し, 深く謝意を表します.

## 文 献

- 1) Agosin, M., Christen, R., Badinez, O., Gasic, G., Neghme, A., Pizarro, O. & Jarpa, A. : Proc. Exper. Biol. & Med., 80, 128 (1952).
- 2) Barker, S. B. & Summerson, W. H. : J. Biol. Chem., 138, 535 (1941).
- 3) Beserga, R. & Shubik, P. : Cancer Res., 14, 12 (1954).
- 4) Coleman, G. & Elliott, W. H. : Nature, 202, 1083 (1964).
- 5) Dipaolo, T. A., Moore, G. E. & Niedbala, T. F. : Cancer Res., 17, 1127 (1957).
- 6) Elion, G. B. : J. Biol. Chem., 208, 477 (1954).
- 7) Fiske, C. H. & Sabbarow, Y. : J. Biol. Chem., 66, 375 (1952).
- 8) Gilman, A. & Philips, F. S. : Science, 103, 409 (1946).
- 9) Goldberg, I. H. & Rabinowitz, M. : Science, 136, 315 (1962).
- 10) Goldin, A. & Mantel, N. : Cancer Res., 17, 635 (1957).
- 11) Goldin, A., Venditti, J. M., Hunphreys, S. R., Dennis, D., Mantel, N. & Greenhouse, S. W. : J. Nat. Cancer Inst., 15, 1657 (1955).
- 12) Gregory, F. J., Pugh, L. H., Hata, T. & Thielen, R. : Cancer Res., 16, 985 (1956).
- 13) Hackmann, C. : Z. Krebsforsch., 58, 607 (1952).
- 14) Hata, T., Yoshimoto, S., Sugawara, R., Matsumae, A., Kanemori, K., Shima, T. Hoshi, T. : J. Antibiot. Ser., A.9, 141 (1956).
- 15) Heilman, F. R. & Kendall, E. C. : Endocrinology, 34, 416 (1956).
- 16) 日比野 進 : 日本臨床, 19, 1177 (1961).
- 17) 日比野 進 : 最新医学, 19, 1862 (1964).
- 18) 今永 一 : 外科治療, 6, 553 (1962).
- 19) 石川 稔・杉石正司・櫻庭昭・鷲野昌夫 : 癌, 47, 427 (1956).
- 20) 伊藤一二 : 最新医学, 19, 2333 (1964).



- 21) 河村謙二・橋本 勇 : 最新医学, 19, 2345 (1964). 22) 小山善之 : 内科, 13, 1077 (1964). 23) 小山善之・武正勇造・斉藤照子・山県英士・飯塚晴夫・中尾 茂・宮部潤子・田郷寿正・指田和明 : 最新医学, 13, 2861 (1958).
- 24) 黒川利雄・山形敏一・斉藤達雄・西条力男・村田栄治・長谷川正夫・高仲幹雄・大平貞雄・桑野昭彦・雲出 正・伊藤正敏・平井二郎・亘理健一・佐々木義徳・瀬戸淳一・若狭治毅・橘 芳郎 : 癌の臨床, 6, 220 (1960). 25) Law, L. W. : Cancer Res., 12, 871 (1952). 26) Lowe, C. U. : J. Nat. Cancer Inst., 15, 1619 (1955).
- 27) Lowe, C. U. & Williams, W. L. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 84, 70 (1953). 28) MacLeod, R. M., King, C. E. & Hollander, V. P. : Cancer Res., 23, 1045 (1963).
- 29) 松永藤雄・山口 保・梶原 実・徳岡潤三・石田 実・黒滝良宏・鈴木竹一・田村克美・下山 孝・鈴木啓充・花田雅寧・三川 清 : 癌の臨床, 9, 640 (1963). 30) Messier, B. & Leblond, C. R. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 96, 7 (1957). 31) Mejbbaum, W. : Z. Krebsforsch., 258, 117 (1939). 32) 宮川 正・亘理 勉 : 最新医学, 19, 2298 (1964).
- 33) 中田陽造・中田 澗・阪本幸哉・西 博美 : 第21回日本癌学会記事, 34) 太田和雄・山田一正・児玉光雄・粟田宗次・棟方宏次・勝見乙平・島田 惇・神谷博彦・伊藤正人・竹井多喜馬・村上 巖・小川一誠・三浦守司・平野正美・恒吉英彦・平光精二・今村一夫・山崎健之・伊藤銑一・野村聰・小原寛治 : 最新医学, 19, 2365 (1964).
- 35) Planelles, J., Ozeretskovsky, N. & Djeksenbaev, O. : Nature, 195, 713 (1962).
- 36) Pomeroy, T. C. : Cancer Res., 14, 201 (1954). 37) Potter, V. R. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 76, 41 (1951). 38) Reich, E., : Cancer Res., 23, 1428 (1963).
- 39) Reich, E., Franklin, R. M., Shatkin, A. J. & Tatum, E. L. : Science, 134, 556 (1961). 40) Reich, E., Shatkin, A. J. & Tatum, E. L. : Biochim. Biophys. Acta, 53, 132 (1961). 41) 阪本幸哉・中田陽造・中田澗 : 第20回日本癌学会記事, 28 (1961).
- 42) Sartorelli, A. C. : Nature, 203, 877 (1964). 43) 佐藤泰雄・木山 敏 : 癌の臨床, 6, 309 (1960). 44) Schmidt, G. & Thannhauser, S. J. : J. Biol. Chem., 161, 293 (1945). 45) Schneider, W. C. : J. Biol. Chem., 161, 339 (1945). 46) Schulte, G. : Z. Krebsforsch., 58, 500 (1952).
- 47) Schwartz, H. S., Sodergren, J. E., Garofalo, M. & Sternberg, S. S. : Cancer Res., 25, 307 (1965). 48) Schwartz, H. S., Sternberg, S. S. & Philips, F. S. : Cancer Res., 23, 1125 (1963). 49) Shah, V. C. : Cancer Res., 23, 1137 (1963).
- 50) Shapiro, D. M. & Fugmann, R. A. : Cancer Res., 17, 1098 (1957). 51) 芝 茂 : 最新医学, 14, 1831 (1959). 52) 芝 茂 : 最新医学, 19, 2353 (1964). 53) Shibatani, A. : Exp. cell Res., 17, 131 (1959). 54) 柴谷篤弘 : 癌の生化学 (中原編) 第1版, 55頁, 東京, 医学書院 (1960). 55) 島田信勝・石井良治・武石輝夫 : 最新医学, 19, 2319 (1964).
- 56) 白羽弥右衛門 : 診断と治療, 51, 639 (1963). 57) Skipper, H. E., Thomson, J. R. & Bell, M. : Cancer Res., 14, 503 (1954). 58) Sugawara, R. & Hata, T. : J. Antibiot. Ser. A.9, 147 (1956). 59) Sugiura, K. : Cancer Res., 19, 438 (1959). 60) Tsunamura, S. & Sartorelli, A. C. : in press. 61) 卜部美代志・山本恵一・小林次夫・網村史郎 : 治療, 42, 2223 (1960). 62) 卜部美代志・山本恵一・網村史郎・福田明史・大島輝也 : 臨床外科, 21, 17 (1966). 63) 白淵 勇・大星章一・菅原道義・吉田順之助・本郷敏郎・傍島行雄 : 癌の臨床, 9, 17 (1963). 64) Wakaki, S., Marumo, H., Tomioka, K., Shimizu, G., Kato, E., Kamada, H., Kudo, S. & Fujimoto, Y. : Antibiot. Chemoth., 8, 288 (1958). 65) Waksman, S. A. & Woodruff, H. B. : Proc. Soc. Exper. Biol. & Med., 45, 609 (1940). 66) Warburg, O. : Biochim. Z., 142, 317 (1923). 67) Watson, B. E. M. : J. Nat. Cancer Inst., 20, 219 (1958). 68) Wheeler, G. P. & Bennet, L. L. : Biochem. Pharmacol., 11, 353 (1962). 69) 渡辺 格・三浦謹一郎 : 実験化学講座 (日本化学会編) 第2版, 23巻, 245頁, 東京, 丸善株式会社 (1963). 70) 山形敏一・宇塚善郎・杉内 巖・中里道彦・大内栄悦・小山内信昭 : 最新医学, 17, 2647 (1962). 71)

山下永策：阪大医誌，11 (10)，4069 (1959).  
72) 陣内伝之助・田中早苗・清水準也・小野正員・

岡島邦雄・榊原宣・小林淳一：癌の臨床，8，533  
(1962).

#### Abstract

From the biological and biochemical standpoints, the author studied the effects of actinomycin D and mitomycin C administered intraperitoneally with a single dose upon the mouse ascites tumors (Sarcoma 180, leukemic ascites tumor SN-36 and Ehrlich ascites tumor), and the effects of the combination of actinomycin D and mitomycin C as well as the combination of one of these drugs and prednisolone acetate. The results obtained were as follow:

1) The total number of tumor cells in the peritoneal cavity of mice bearing one of these three ascites tumors increased 6 and 12 hours after the administration of actinomycin D. In the experiment using Ehrlich ascites tumor, such a change as a increase of peritoneal tumor cells occurred most markedly. After the administration of actinomycin D, the mitotic index of Sarcoma 180 cells increased slightly after 5 hours and then began to decrease rapidly after 7 hours. The figure of tumor cell degeneration began to be observed 9 hours after the drug injection. Mitomycin C showed constantly the decreases of both intraperitoneal Sarcoma 180 tumor cell count and the mitotic index soon after the administration.

2) Following the administration of actinomycin D, prominent inhibition of RNA metabolism of Sarcoma 180 cells and consequent decrease in RNA content of a tumor cell occurred rapidly at an early time, and on the contrary DNA metabolism increased after 3 and 6 hours and turned to decrease after 12 hours. On the other hand, mitomycin C caused rapid and marked inhibition of DNA metabolism in Sarcoma 180 cells and consequently slight decrease of DNA content and striking increase of RNA content of a tumor cell 24 hours after the administration. These differences in the biochemical effects on tumor cells between these two drugs were in agreement with biological changes. From these results it could be suggested that mitomycin C caused a prompt inhibition of growth of tumor cells, on the contrary actinomycin D caused slower effect with a constant latency, showing a transient promotion of the growth of tumor cells at an early time after the administration. A transient increase of DNA metabolism and continuous decrease of RNA content of a tumor cell as observed in the experiment using actinomycin D was also found in the treatment of ribonuclease against Sarcoma 180 tumor cells. It was suggested that ribonuclease and actinomycin D might have some similar action upon the nucleic acid metabolism of tumor cells. Furthermore, it was probably conceivable that suppression of RNA content of a tumor cell might give a rise of transient promotion of DNA metabolism and the consequent increase of the growth of tumor cells.

3) Actinomycin D did not affect the endogenous respiration and anaerobic glycolysis of tumor cells and mitomycin C affected slightly both of them. Actinomycin D inhibited  $C^{14}$ -glycine incorporation into protein of tumor cells at an early time after the administration.

4) Combination chemotherapy of actinomycin D and mitomycin C against mice bearing leukemic ascites tumor SN-36 cells resulted in a more pronounced prolongation of survival time of the mice and more marked decreases in the total number of tumor cells in the peritoneal cavity and the mitotic index of tumor cells and inhibition of DNA metabolism than did single therapy with each drug alone. When mitomycin C was injected intraperitoneally 3 hours after the administration of actinomycin D, the number of tumor cells in the peritoneal cavity, the mitotic index and nucleic acid metabolisms which were investigated by methods

using incorporation of  $C^{14}$ -orotic acid into nucleic acids and  $H^3$ -thymidine autoradiography were suppressed to the greatest extent. It was concluded from these results that the administration of mitomycin C at the time when DNA metabolism of tumor cells was promoted was most effective for inhibiting growth of tumor cells.

5) Treatment of prednisolone alone against mice bearing leukemic ascites tumor SN-36 resulted in no changes in survival time of the animals and total number of tumor cells in the peritoneal cavity. This drug caused only a slight decrease of  $P^{32}$ -incorporation into nucleic acids of tumor cells and nucleic acids content of a cell, and the degree of decrease was greater in RNA metabolism and RNA content than in those of DNA.

6) Combination therapy mitomycin C and prednisolone showed a greater prolongation of survival time of tumor bearing mice, and more marked decrease of total intraperitoneal tumor cell counts, the mitotic index and nucleic acid metabolism than did the administration of either of each drug alone. It was conceivable that destruction of tumor cells was brought about with cooperative action of both depression of RNA metabolism by prednisolone and inhibition of DNA metabolism by mitomycin C.

7) Combination therapy of actinomycin D 0.06 mg/kg and prednisolone 40 mg/kg showed a most marked prolongation of survival time of animal bearing SN-36 tumor among the different combination doses of these two drugs. The total number of cells in the peritoneal cavity and nucleic acid content of a SN-36 tumor cell decreased in proportion to the increase of doses of these two drugs. Especially decrease of RNA content was much greater than that of DNA content. Accordingly, it was suggested that the mechanism of action of this combination therapy using actinomycin D and prednisolone was involved in inhibition of RNA synthesis rather than DNA synthesis.

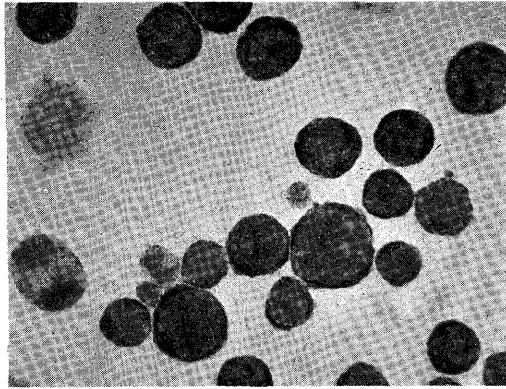


写真1 薬剤非投与群  
マウス腹水内の Sarcoma 180 腫瘍細胞 Giemsa  
染色 ×690

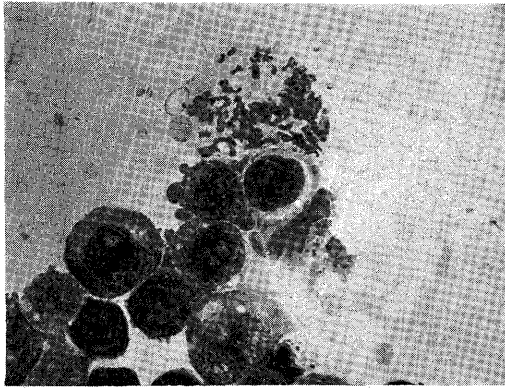


写真2 MMC 投与群, [MMC 1 mg/kg 腹腔内投与  
後7時間目の腫瘍細胞. 染色体は断裂, 疎散し胞体  
の膨化をみる. 腫瘍細胞は概して大型化している.

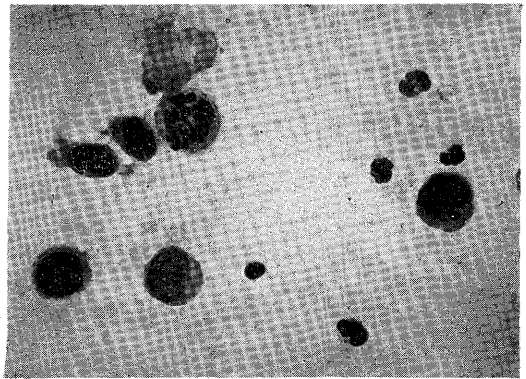


写真4 AMD 投与群. AMD 0.06 mg/kg 投与後9  
時間目の腫瘍細胞. 染色体の凝集, 変形をみる. 腫  
瘍細胞は概して小型化している.

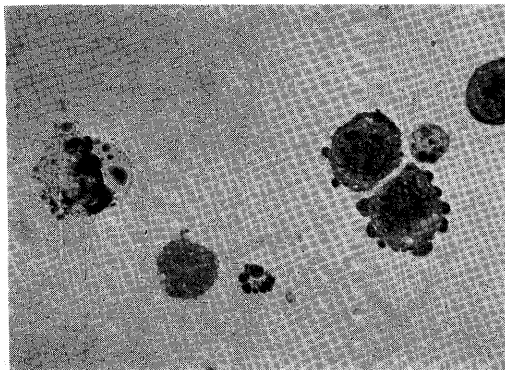


写真3 MMC 投与群, MMC 1 mg/kg 腹腔内投与  
後12時間目の腫瘍細胞. 染色体の凝集, 油滴状核な  
どの出現をみる.

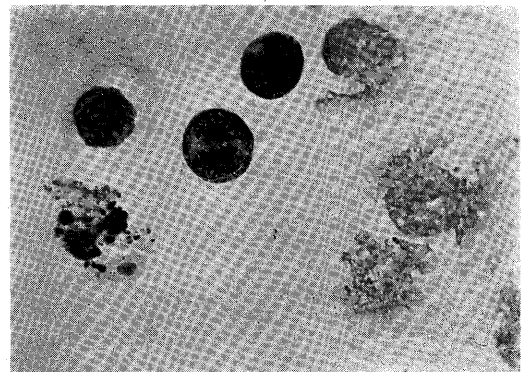


写真5 AMD 投与群. AMD 0.06 mg/kg 投与後12  
時間目の腫瘍細胞, 油滴状核, 胞体の崩壊をみる.

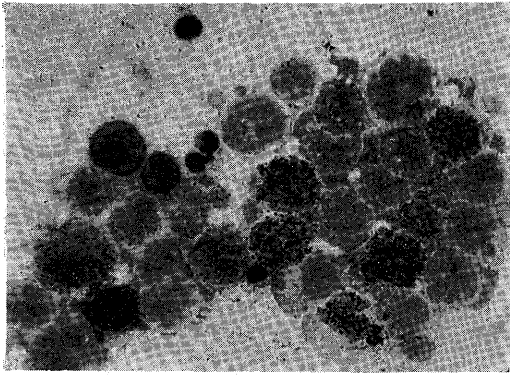


写真6 薬剤非投与群.  $H^3$ -thymidine  $20 \mu c$  を腹腔内に投与し, 1時間後に採取した腹水内 Sarcoma 180 細胞の autoradiograph. Giemsa 染色  $\times 690$

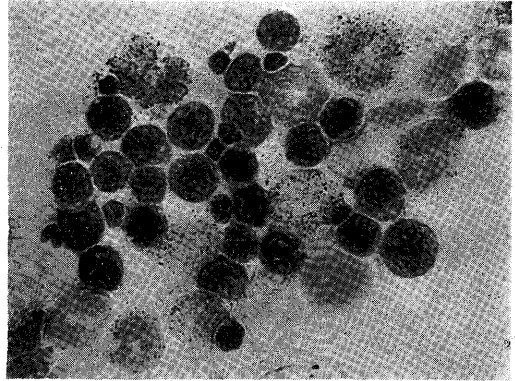


写真8 MMC 投与群. MMC  $1 \text{ mg/kg}$  を腹腔内に投与し 24時間目に  $H^3$ -thymidine  $20 \mu c$  を腹腔内に投与し作製した autoradiograph labeled cell の減少とその核内銀粒子の減少をみる.

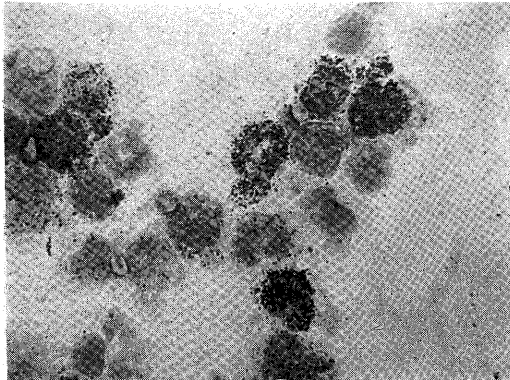


写真7 AMD 投与群. AMD  $0.09 \text{ mg/kg}$  腹腔内投与し, 24時間目に  $H^3$ -thymidine  $20 \mu c$  を腹腔内に投与し, 作製した autoradiograph 軽度の labeled cell の減少と核内銀粒子数の減少をみる.

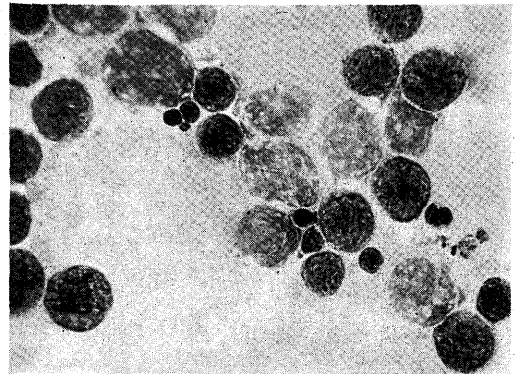


写真9 併用群. AMD  $0.09 \text{ mg/kg}$ , MMC  $1 \text{ mg/kg}$  を同時に腹腔内に投与し, 24時間目に  $H^3$ -thymidine  $20 \mu c$  を腹腔内に投与して作製した autoradiograph, labeled cell はわずかにみられるのみで, その核内銀粒子の減少も著明である.