

Title	分裂細胞に対する放射線と各種薬剤との併用効果に関する研究（第17報）マイトマイシンCに関する実験
Author(s)	佐々木, 寛
Citation	日本医学放射線学会雑誌. 1960, 19(10), p. 2134-2145
Version Type	VoR
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/17735">https://hdl.handle.net/11094/17735</a>
rights	
Note	

*Osaka University Knowledge Archive : OUKA*

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

# 分裂細胞に対する放射線と各種薬剤との併用効果に 関する研究 (第 17 報)

## マイトマイシン C に関する実験

北海道大学医学部放射線医学教室 (主任 若林勝教授)

佐々木 寛

(昭和34年10月9日受付)

### 緒 論

放射線の生物作用機序を明かにする手段として、著者の教室では放射線と各種薬剤の併用によつて起る作用からその機序をうかゞおうとする試みがなされ、既に十数種の薬剤との併用実験が行われている<sup>1)2)3)4)5)</sup>。

著者はその一環として近時抗腫瘍剤として注目されている *Streptomyces Caesitosus* から結晶として分離せられたマイトマイシン C<sup>6)7)8)</sup> を用い検討した。抗生物質が種々な感染症に対して著明な効果を示すことが発見されて以来、これらの医学的利用が盛んとなり、抗腫瘍性物質もまたこれらのなかにも求められるようになった。その結果数種においては抗腫瘍性が実験的あるいは臨床的に明かにされている。しかしそれらの効果は未だ満足すべきものでない。このような点から放射線との併用によつてその効果を強めようとする手段もまた治療上興味ある問題と考える。

著者はこれらの点を明かにせんとして実験を行った。先ず腹水肉腫細胞に対するマイトマイシン C の効果を詳細に検討し、次いで X 線との併用について実験を行った。

### 実験方法

ウイスター系白鼠 (体重 80~90 g) に MTK 肉腫 III を移植し、移植後 3 日目のものを実験に使用した。腹水を継時的に採取しおしつぶし法及び塗抹法によつて作った標本を酢酸グリヤ液及びギムザ氏液で染色したものについて、有絲核分裂頻

度、各分裂期の変動、中、後期染色体の形態的变化及び腫瘍動物の延命効果の 4 つを指標に観察した。

有絲核分裂頻度は腫瘍細胞 2000 個に含まれる分裂細胞を数え、処置前の分裂頻度を 100 とし、処置後の値をその増減率 (%) で表示した。この場合各実験群とも 4~5 例の実験結果の平均値として示した。

X 線照射条件は 160kVp, 6mA, 0.5mmCu + 0.5mmAl 濾過板 (半価層 0.85mmCu), 動物焦点間距離 30cm, 線強度 30.5r/min, 20Cr 全身一時照射である。

マイトマイシン C は協和醗酵製 (以後 MC と略称) を用い 0.3~0.001mg/100g (腹腔内投与) の各種投与量について実験を行った。

次に X 線照射の前後に MC を投与しその併用効果について実験を行った。

### 実験成績

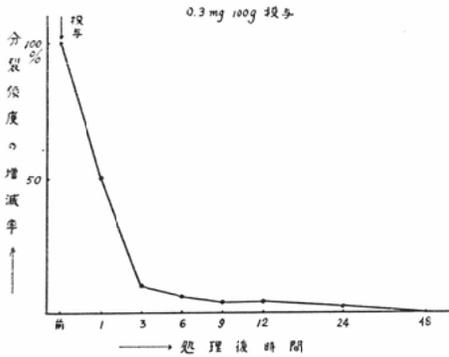
#### 実験 I X 線 20Cr 照射の影響

腹水肉腫に対する X 線の作用についての業績は既に多数あるが、之を追試して以下の実験の対照とした。分裂頻度は照射後急激に減少し 1 時間後最低となり 3 時間後に増加し始め 6 時間後にはほぼ処置前値に戻った。

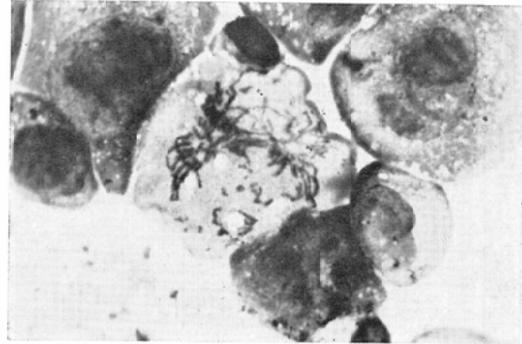
分裂各期の変動、中、後期細胞の染色体の形態的異常についても田尻<sup>4)</sup>、木戸<sup>9)</sup>等の多くの先人の成績にほぼ一致した。

#### 実験 II MC の影響

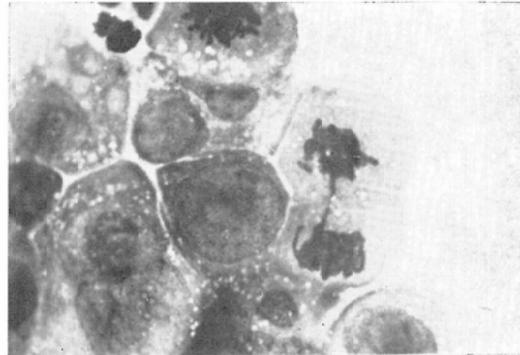
第1図 分裂頻度の変化 (0.3mg/100g)



附図3 橋形成及び切断



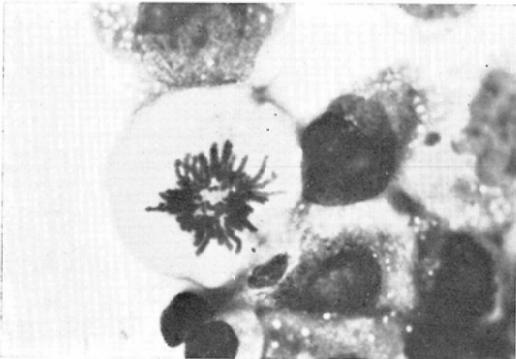
附図4 橋形成



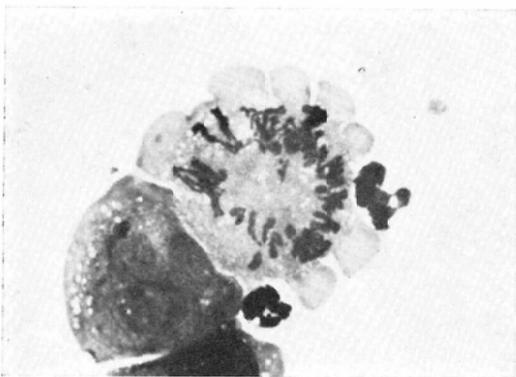
1) MC 0.3mg/100g 投与

この場合は分裂頻度は第1図の如くで投与1時間後より著しい減少を示し、3時間後には処置前値の90%となった。その後も更に徐々に減少して24時間後には分裂細胞は殆んど観察されなくなった。48時間後になると腹水は次第に稀薄とな

附図1 糸状化



附図2 糸状化及び切断



り、その中に腫瘍細胞は殆んど認められなくなるまでに減少した。

分裂各期についてみると、前期は投与後漸次減少して6時間以後は消失した。中期は3~24時間にわたり著しい減少を示し48時間後では殆んど観察されなくなった。後期は24時間で消失し、終期は3時間で著しく減少し24時間では全く観察されなくなった。

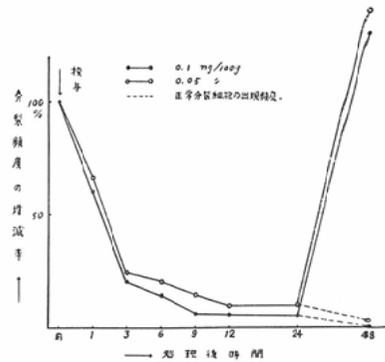
次に染色体の形態的变化として中期においては染色体の粘着、糸状化(附図1)、切断(附図2)等がみられ、後期においては染色体橋の形成、切断にもとづく遅滞が著明に認められ、漸次増加して24時間で最も多く認められた。

担腫瘍動物の生存日数をみるに5例中3例は移植後60日においても再発を認めず、解剖した結果においても腫瘍は認めなかつた。他の2例は16日、23日に夫々死亡した(第2表)。MCの0.3mg/100g投与は明かに延命効果が認められた。

第1表 中期における染色体異常 (0.01mg/100g 投与)

分類	時間	前	1	3	6	9	12	24	48
正常型		85	75	76	73	64	42	36	3
凝集		1	2	2	3	7	13	10	0
粘着		3	5	4	4	8	11	12	0
變形短縮		1	3	2	3	2	0	0	0
糸状化		0	0	0	0	2	10	15	50
切断		0	0	0	0	2	5	10	32
散乱		3	5	6	6	3	5	2	0
橋在		2	3	5	3	4	3	5	0
前壊型		5	7	5	8	8	11	10	15

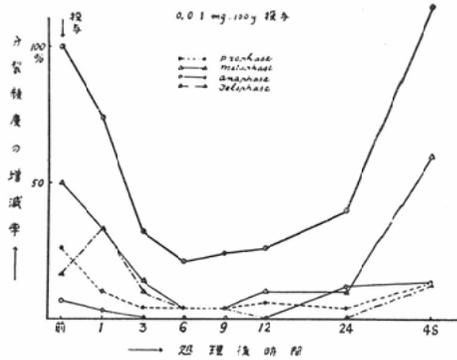
第2図 分裂頻度の変化 (0.1及び0.05mg/100g 投与)



第2表 各実験群の生存日数

実験群	投与回数	死亡例の平均生存日数	死亡例の生存日数の範囲	未再発例
対照群	5匹	7.6日	7-8日	0匹
0.3 mg/100g	5	12.5	16-23	3
0.1 mg/100g	5	12.6	17-22	2
0.05	5	28.2	17-53	1
0.01	5	8.2	7-10	0
0.001	4	7.7	7-8	0
X(0)+MC 0.01	5	8.8	8-11	0
X(60)+MC	5	8.2	7-10	0
X(180)+MC	5	9.0	7-11	0
X(360)+MC	5	8.2	7-10	0
X(540)+MC	5	9.2	8-10	0
MC 0.01(0)+X	5	10.0	9-11	0
MC(60)+X	5	10.8	10-11	0
MC(180)+X	5	11.4	11-12	0
MC(360)+X	5	11.6	11-12	0
MC(540)+X	5	10.8	10-12	0
X(60)+MC 0.01	4	9.7	7-9	0
X(180)+MC	4	7.5	7-8	0
MC 0.01(60)+X	5	7.8	7-8	0
MC(180)+X	3	7.6	7-8	0

第3図 分裂頻度の変化 (0.01mg/100g 投与)



第3表 分裂頻度の最低値と最低値到達時間

実験群	分裂頻度最低値	最低値到達時間	併用後48時間目分裂頻度
200g	-75%	照射後1時間	+5%
0.3 mg/100g	-100	投与後48	-100
0.1	-95	9	+30
0.05	-90	12	+40
0.01	-79	6	+15
0.001	-55	6	+5
X(0)+MC 0.01	-90	1	-70
X(60)+MC	-89	12	-65
X(180)+MC	-80	1	+10
X(360)+MC	-75	照射後1	-30
X(540)+MC	-75	1	-20
MC 0.01(0)+X	-96	1	-96
MC(60)+X	-96	3	-50
MC(180)+X	-94	3	-53
MC(360)+X	-97	3	-48
MC(540)+X	-95	1	-45
X(60)+MC 0.001	-94	投与後1	-4
X(180)+MC	-75	照射後1	+2
MC 0.001(60)+X	-88	3	+10
MC(180)+X	-88	1	+4

2) MC 0.1mg/100g 投与

分裂頻度は第2図の如く投与後1時間より減少し始め9~24時間にわたって-94~95%の低値を示し、その後増加し始め48時間後では処置前値の

+15%となった。

分裂各期についてみると、分裂頻度には対応した変化を示したが前、中期の減少が著明で後、終期は前二者に比して軽度であった。

次に中期の染色体の形態的異常としては染色体の粘着、凝集、糸状化及び切断が主なものである。この変化は6時間目より出現し48時間で最も著明に認められた。後期においては染色体橋の形成、染色体の切断による染色体遅滞を示すものが24~48時間において著明に認められた。

すなわち、この量の投与では分裂細胞は9-24時間に著明な抑制がみられるが48時間後には再び処置前値に回復する。しかしこれら大部分の分裂細胞は形態的異常を示しており、第2図に示す如く分裂頻度の回復はみかけの上のもので腫瘍の増殖の主体となるような正常細胞の回復ではない。

担腫瘍動物の生存日数は、5例中2例は60日に

において再発を認めず、屠殺して解剖した結果においても腫瘍の存在は認めなかつた。他の3例は夫々17日、19日、22日の生存日数を示した(第2表)。すなわちこの場合にも明かに延命効果が認められた。

3) MC 0.05mg/ 100g 投与

この場合は第2図の如くであり分裂頻度の経過、分裂各期の変動及び中、後期の染色体の形態的異常も前実験とほぼ類似した消長を示した。

担腫瘍動物の生存日数は5例中1例において60日に至るも再発を認めず、剖検した結果も病的所見はなかつた。他4例は17日に1例、23日に2例、53日に1例の腫瘍死を認めた。

すなわち、此の場合も延命効果が認められる。

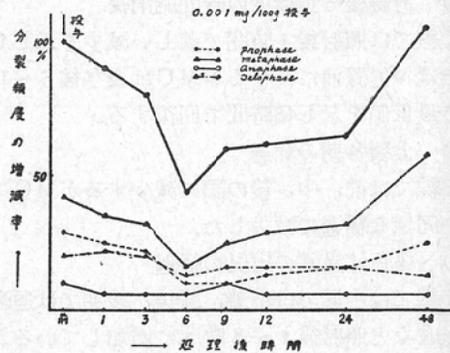
4) MC 0.01mg/ 100g 投与

この場合の分裂頻度は第3図の如く1時間より減少し始め6時間で処置前値の-79%と最低値を示し、その後は序々に増加の傾向を示し24時間以後急激に増加し48時間で処置前値の+15%となつた。しかしこれらの分裂細胞は大部分が異常細胞であつて正常な分裂細胞による分裂回復でない。

分裂各期についてみると、前期は投与後6時間で最低値をとりその後再び増加の傾向を示した。中期は投与後6~9時間で最低値を示し、以後増加するも24時間まで低値をとり48時間で処置前値を超え急激な増加が見られた。後期は投与後3~12時間にわたつて殆んど観察されなくなるが24時間後には再び処置前値に復した。終期は6~12時間で最低値を示し、48時間で処置前値に戻つた。

次に中期の染色体の形態的異常は第1表の如くで1時間から24時間後にかけては染色体の粘着、凝集が最も多い。しかし24時間から48時間後には染色体の糸状化、切断等に配列異常を併せ示す異常が著明な増加を示し、48時間では染色体の粘着、凝集を示すものは殆んど存在しなくなつた。また後期においては染色体の粘着や切断に基づく染色体橋の形成、遅滞などが認められ、投与後24時間から48時間にかけて最も著しかつた。一方静止期の細胞に対しても3時間後から細胞質の膨潤

第4図 分裂頻度の変化 (0.001mg/ 100g 投与)



が起り、次第に細胞質に空泡形成が現われて来る。その後この種の異常は著明となり24~48時間後が最も強度となり、泡状突起がみられ細胞質の染色性の著しい低下が現われ、続いて細胞の変性、破壊が認められた。

担腫瘍動物の生存日数は5例の平均 8.2日で無処置対照群の 7.6日と比較して生命の延長が認められなかつた。

5) MC 0.001mg/ 100g 投与

分裂頻度は第4図に示す如く3時間目より減少し始めるがその程度は前実験群に比較すると遙かに軽度であり6時間で処置前値の-55%と最低値を示しその後序々に増加して処置前値に戻つた。

この場合の変化は定性的には前者と同様な経過であるが分裂頻度の減少は軽度であり、特に染色体の形態的变化は極めて僅かであつた。

生存日数は7~8日にすべて腫瘍動物が死亡し、未処置対照群 7.6日とほぼ同様で生存日数の延長は認められなかつた。

以上MCは投与後1時間で作用を現わし、3~24時間にかけて著しい分裂抑制を示した。分裂各期についてみると前、中期の減少が強度であり後、終期は前二者に比して軽度である。染色体の形態的異常としては中期では染色体の粘着、凝集、糸状化、切断が、後期においては橋形成、遅滞などの変化を示すものが多く radiomimetic effect に近い作用を示した。

これらの変化、特に0.01mg/ 100g MC投与とX線 200γ照射の場合とを比較すると次の如くで

ある。

### 1) 有糸核分裂頻度の時間的消長

X線では照射後1時間に著しい減少を示し9時間では処置前に復するがMCは投与後6~12時間で最低値を示し48時間で回復する。

### 2) 分裂各期の経過

X線では前、中、後の順に減少するがMCでもほぼ同様な経過で減少した。

### 3) 染色体異常の出現の経過

X線では中期では粘着、凝集、後期では遅滞、橋形成など照射後1~3時間に増加しているが、MCでは投与後12~48時間にかけて中期では染色体の粘着、凝集、糸状化、切断、後期では粘着、切断に基づく染色体の橋の形成、遅滞などの異常が増加した。両者の異常は極めて類似したものである。しかし染色体の糸状化はMCにみられる特殊な変化であつてX線照射では全く認められることは出来ない。

すなわちX線の作用とMCの作用を比較するに分裂頻度の減少の時間的消長が異なり又核学的変化は質的に多少異なるものがあつた。各期細胞の消長は両者よく類似していた。

### 実験II MCとX線との併用効果

放射線とMCとの腹水肉腫に対する併用効果を検討するに当り、まず放射線を照射しその後薬剤を投与した場合と、それと処理順を逆に薬剤投与後放射線を照射した場合について実験を行った。すなわちX線照射は200r全身一時照射、MCの投与量は0.01mg/100gとした。

#### 1) X線とMCとの併用効果(X+0.01mgMC)

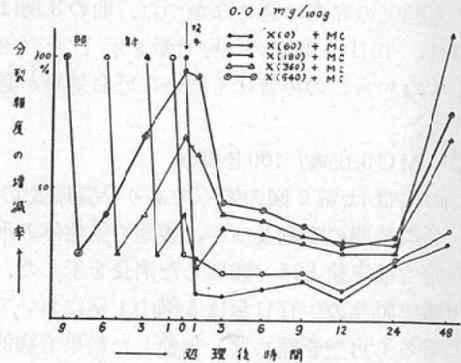
##### A) X線照射後MC投与(X+MC)

##### a) 照射直後MC投与(X(0)+MC)

第5図の如く分裂頻度は投与後1時間より著明な減少を示し、1~12時間にわたつて-90%前後の低値を持続した。その後は徐々に増加するが48時間でも尚処置前値の-70%まで回復するに過ぎない。

分裂各期の変動は前期では24時間後まで非常に低値を示しているが48時間では殆んど消失した。中期は1時間後急激に減少し12時間まで低値を持

第5図 分裂頻度の変化(X×MC0.01mg/100g)



続しているがその後24時間では増加の傾向を示した。後期、終期は1時間後急激に減少しこの低値を48時間まで持続した。

染色体の形態的異常は中期においては染色体の粘着、糸状化等が、後期においては橋の形成、遅滞等が9~48時間にかけて著明に認められ、その変化はMC単独の変化に比してやゝ強度であつた。照射直後にMCを投与するときは分裂頻度はMC単独の場合より減少の度大で且つその持続時間も長く又核学的変化もMC単独の場合より強度であつた。すなわちX線前照射がMCの作用を増強する傾向であつた。従つて併用効果があつたと云える。

##### b) 照射1時間後MC投与(X(60)+MC)

第5図の如く投与後1時間より分裂頻度は著明な減少を示し、投与後12時間(照射後13時間)で処置前値の-89%と最低値をとつた。その後徐々に増加するが48時間後にいたるも処置前値の-65%に回復するに過ぎない。

分裂各期については前者に類似し、ほぼ分裂頻度に対応した変化を示した。

染色体の形態的变化も出現時間も前者とほぼ同様であつた。

すなわち、両者夫々の効果より強い分裂抑制がみられ長時間にわたつて持続した。

この場合にも併用効果があると云える。

##### c) 照射3時間後MC投与(X(180)+MC)

分裂頻度は第5図の如く照射後1時間で-75%と急激に減少し3時間でやゝ増加の傾向を示し

た。こゝでMCの投与をすると投与後1時間で再び-80%と減少し、-65~75%の低値を24時間後まで持続し48時間で処置前値を超え回復を示した。

分裂各期及び中、後期の染色体の形態的異常については前実験と大差がみられない。

すなわちこの場合は投与後の変化はMC単独とほぼ同様な経過を示し両者の作用が独立して現われている。従つて併用効果があるとは云えない。

d) 照射6時間後MC投与 (X(360)+MC)

照射後急激に減少し-75%を示したが6時間後には-30%まで回復した。こゝで投与を行うと投与後3時間(照射後9時間)で分裂頻度は軽度に減少し始め12~24時間で処置前値の-70%前後と減少を示し48時間で-30%までに戻つた。

分裂各期の変化及び染色体の形態異常は前実験にほぼ類似した経過をとつた。

すなわち両者の効果はほぼ独立的であるがMC投与によつて起る変化がやゝ遅れて現われ且つ回復もやゝ遅延している。この場合にも明かな併用効果は認められなかつた。

e) 照射9時間後MC投与 (X(540)+MC)

第5図に示す如く分裂頻度は照射後急激に減少するが9時間後にはほぼ処置前値に戻る。こゝで投与を行うと投与後3時間(照射後12時間)より急激な減少を示し12~24時間後で最低値の-70%前後を示し48時間で-20%までに回復した。

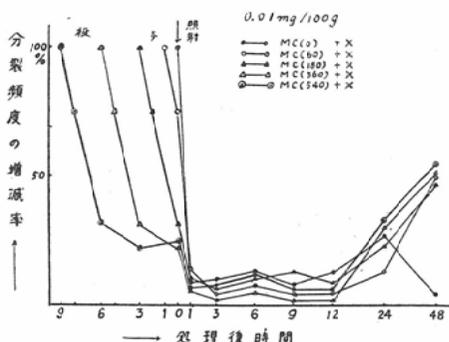
分裂各期の変動及び染色体の形態的变化については前実験と大差が見られなかつた。

以上の結果は夫々の作用が独立的にみられる。しかし前者と同じくMCによる効果がやゝ遅れて出現し且つ回復も単独に比して遅延している。

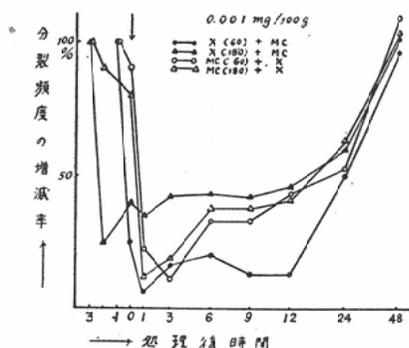
以上の如くX線照射後にMC投与を行うとX線及びMCの効果が夫々現われるが照射直後、1時間後投与では明かに併用による分裂抑制の増強が認められる。しかし3, 6, 9時間後投与ではその効果は併用によつて著しく増強されることはない。

担腫瘍動物の生存日数についてはこの実験群にすべて8.2~9日で死亡した。MC0.01mg/100g投与群は平均8.2日であり、X線照射後投与に

第6図 分裂頻度の変化 (MC0.01mg/100g+X)



第7図 分裂頻度の変化 (X+MC 0.001mg/100g)



よつて著しい生存日数の延長は認められない(第2表)。

B) MC投与後X線照射 (MC+X)

a) MC投与直後照射 (MC(0)+X)

分裂頻度は第6図の如く照射後1時間で処置前値の-96%と最低値に達しほぼ同様な低値を9時間まで持続し24時間後には-73%と軽度に増加傾向を示すが48時間で再び-96%と強く減少を示した。

分裂各期についてみると、前期は1時間より減少し始め9~12時間で消失し24時間で僅かに出現し48時間では再び観察されなくなつた。中期は照射後1時間より著しく減少し12~24時間でやゝ増加をみるが48時間で再び減少した。後期、終期は照射後1時間より殆んど消失した。

中期の染色体の形態的異常としてはこの場合にも染色体粘着、凝集、糸状化、切断等、後期では橋の形成、遅滞等が主でありその頻度はX+MC

よりやゝ強度であつた。

すなわち夫々の効果より著しい分裂抑制が認められ明かな併用効果が認められる。

b) MC投与1時間後照射 (MC(60)+X)

第6図の如く分裂頻度は照射後1時間より著しく減少し3時間で処置前値の-96%と最低値を示しほゞ同様な低値を12時間まで持続し24時間で軽度の増加傾向が現われ48時間後で処置前値の-50%前後にまで回復した。

分裂各期についてみると、分裂頻度に対応してすべて各分裂期は著明な減少を示した。

分裂中期の形態的变化は前実験とほゞ同様な経過をとつた。

この場合も併用による著しい分裂抑制の増強がみられた。

c) MC投与3時間後照射 (MC(180)+X)

分裂頻度は第6図の如く前実験とほゞ同様な経過を示し、照射後3時間(投与後6時間)で-94%と最低値をとり、48時間後でやゝ増加し-53%までに回復した。

分裂各期の変動も、中、後期染色体における形態的变化もほゞ前実験に類似した変化を示した。

すなわち、両者の併用によつて著しい分裂抑制がみられ、夫々の効果よりもより強いものであつた。

d) MC投与6時間後照射 (MC(360)+X)

第6図の如く前実験とほゞ同様な分裂頻度の経過をたどり照射後1時間で更に減少し3時間後(投与後9時間)で処置前値の-97%と最低値を示しほゞ同様な低値を12時間まで持続し24時間で増加の傾向をとり、48時間で処置前値の-50%前後までに戻つた。

分裂各期は前者にほゞ類似した変化を示し、中、後期の形態的变化もまた前実験と同様であつた。

この場合も著しい分裂頻度の低下が長時間にわたり持続し明かな併用効果が認められた。

e) MC投与9時間後照射 (MC(540)+X)

この場合の変化は第6図の如く投与後著しい減少を示し9時間後に-76%となつた。こゝで照射

を行うと照射後1時間(投与後10時間)から急激に減少がみられ1~12時間にわたつて-90~95%の低値を持続した。その後24時間から回復に向い48時間後に-45%までに戻つた。

分裂各期の変動及び中、後期の形態的異常は前実験とほゞ同様な経過を示した。

すなわち併用による著しい分裂抑制が認められた。

以上の如くMC投与後X線照射は直、1、3、6、9時間の間隔をおいた併用のいずれの場合においても著しい分裂抑制が長時間にわたり認められた。特に投与直後照射において最も著明である。

担腫瘍動物の生存日数に対する影響は直後の併用において平均10日、1時間後平均10.8日、3時間後平均11.4日、6時間後平均11.6日、9時間後平均10.8日と未処置対照群平均7.6日より長く、またX+MCのいずれの実験群よりも長い(第2表)。このことは僅かながらMC+Xの併用によつて腫瘍動物に対する延命効果が認められるものと考える。

II) X線とMC 0.001mg/100gの併用効果(X+MC 0.001mg)

MC 0.01mg/100gとX線との併用について検討したが更に腫瘍細胞に対して形態的变化を著明に現わさない0.001mg/100gとX線との併用効果について前者と比較検討した。先に金田・櫻井<sup>2)</sup>はコルヒチンで細胞に著明な影響を及ぼさない量とX線の併用において強い併用効果が見られたと報告している。

A) X線照射後MC投与 (X+MC)

a) 照射1時間後MC投与 (X(60)+MC)

分裂頻度は第7図の如く照射後1時間で急激な減少がみられ-75%となつた。こゝで投与を行うと投与後1時間(照射後2時間)で処置前値の-94%と最低値を示し3~12時間では-85%前後の値を持続し48時間ではほゞ処置前値に戻つた。

分裂各期についてみると前期は投与後1時間で最低値を示し48時間でほゞ処置前値に復した。中期は1~12時間にわたつて低値を持続し24時間よ

り増加し始め48時間で処置前値に近ずいた。後、終期は1時間で最低値に達し同様の低値を12時間まで持続し24~48時間でほぼ前値に戻った。

中、後期の形態的異常としては12~48時間に軽度の染色体の粘着、凝集を示すものが増加したが糸状化を示すものは殆んどみられなかつた。後期においては染色体橋の形成、遅滞が24~48時間後に認められた。0.001mg/100g単独投与に比してやゝその変化は強度であつた。

すなわち、この投与量においても併用による強い分裂抑制効果が認められた。

#### b) 照射3時間後MC投与 (X(180)+MC)

第7図の如く分裂頻度は照射後1時間で最低値の-75%を示した。こゝで投与を行うも減少を示すことはなく投与後3時間(照射後6時間)から12時間後まで-60%前後の分裂頻度がみられた。その後は48時間で処置前値に戻った。

分裂各期の変動はほぼ分裂頻度に対応した変化がみられた。また中、後期染色体の形態的異常は1時間後投与に比較してかなり軽度であつた。

すなわち、この場合は夫々単独に比してやゝ分裂抑制が強度である。

#### B) MC投与後X線照射 (MC+X)

##### a) MC投与1時間後照射 (MC(60)+X)

第7図の如く分裂頻度は照射後1時間(投与後2時間)で急激に減少し3時間後には処置前値の-88%と最低値を示し6~12時間で-75%前後に増加し、48時間で処置前値に戻った。

分裂各期についてみると、前期は照射後1時間で最低値を示し3~24時間で同様な低値を持続し48時間で処置前値に戻った。中期は1時間で最低値を示し3~9時間で軽度の増加を来し24時間でほぼ処置前値に戻った。後、終期は1~12時間で減少し48時間で処置前値に復した。

中、後期の形態的変化としては、12~48時間に軽度の染色体粘着、凝集、後期においては橋の形成、染色体の遅滞を示すものが認められた。

この場合も併用による強い分裂抑制がみられた。

##### b) MC投与3時間後照射 (MC(180)+X)

分裂頻度は第7図の如く照射後1時間(投与後4時間)で-88%と最低値を示しその後の経過はほぼ前実験と同様であつた。

また分裂各期の変動、中、後期の形態的変化についてもほぼ前実験と同様の傾向がみられた。

以上の如くMC 0.001mg/100gとX線の併用においても明かに強い分裂抑制を示す併用効果が認められる。抑制効果は0.01mg/100g投与の場合とほぼ同様な傾向を示し照射後1時間投与が最も強く、投与後1及び3時間照射がこれに次ぎ照射後3時間投与が最も軽度である。担腫瘍動物の生存日数は7~8日(平均7.7日)であつた。これらは0.001mg単独投与群の7.7日及び未処置対照群の7.6日に比較して延長は認められなかつた(第2表)。

#### 総括及び考按

MCはMTK肉腫Ⅲに対して著明な分裂抑制を示した。この分裂抑制は0.01~0.3mgの範囲ではいずれにおいても認められ、特に0.3mg/100gにおいては投与24時間後には分裂細胞は全く認められない。

分裂各期についてみると、ほぼ分裂頻度に対応した変化がみられた。

中、後期の染色体の形態的異常としては、中期では最初染色体の粘着、凝集が、それに続いて切断、糸状化、配列異常がみられ、後期では染色体橋の形成、遅滞がみられる。また静止細胞に対しても変化が認められ、核質の変化に続いて細胞質の空胞形成、泡状突起が現われ細胞の崩壊が認められる。

担腫瘍動物の生存日数については0.3~0.05mg/100g1回投与で延命効果が認められ、再発をみない治癒例が0.3mgで3例、0.1mgで2例、0.05mgで1例みられた。しかし0.01~0.001mg/100g投与では対照に比して著しい生存日数の延長はない。

MCはHata<sup>6),7)</sup>等によつて発見された *Streptomyces caespitosus* から産生された抗生物質でWakaki<sup>8)</sup>等によつて結晶として抽出精製されたものである。これらは既に吉田肉腫、Ehrli-

ch 癌, Sarcoma 180, Walker 腫瘍, 弘前肉腫, 臼淵肉腫などについて抗腫瘍性が検討されている<sup>10)11)12)13)14)</sup>。これによるといずれにおいても著明な細胞の増殖抑制と腫瘍動物の延命効果があったことを明かにしている。最近 Sugiura<sup>15)</sup> は22の抗生物質の中でMCが最も強い抑制効果をもち、実験した29の腫瘍のうち16で著しい抑制 (marked inhibitory) 乃至完全な抑制 (complete inhibitory) を示し、特に ascites tumor に active であつたと報告した。また Usubuti<sup>16)</sup> 等は吉田, 弘前, 臼淵, 武田肉腫及び2, 3の hepatoma に強い抗腫瘍性を認めているが腫瘍の種類によつて反応に多少の相違があることを指摘した。

牛野<sup>17)</sup>はこの効果を細胞学的に研究したが、MCはカルチノフィリンと極めて類似した変化を示し、静止核の仁及び染色質に強い変化を起し、それに続いて細胞質に空胞が現われ、泡状突起が出現し、ついには細胞の破壊がみられることを明かにした。阿波<sup>18)</sup>、舟山<sup>19)</sup>もまたカルチノフィリンの作用を検討し、処置後12時間以後の分裂細胞が例外なく類型的な異常を来すことから放射線類似作用を有するし、さらに染色体の糸状化を示すものが多数出現すると報告した。著者の結果はこれらの報告と同じく核と細胞質に対する著明な効果がみられ、また染色体の糸状化を来すものが多数現われ、しかも24時間以後においては大部分の分裂細胞は異常を示していることからカルチノフィリンによく類似した作用効果をもつものと考えられる。阿波がカルチノフィリンの実験で主張する如くMCもまた核質に主な影響を与え、その二次的变化として細胞質の変化が惹起されるものであろう。一方担腫瘍動物の生存日数に対して著者の実験は多くの研究者<sup>10)15)16)</sup>と同様に0.3~0.05mg/100g 1回投与で著しい延命効果が認められた。

次にMCとX線の併用の場合について検討する。之等の結果を要約すると第3表の如くである。

X線照射後にMC 0.01mg/100gを投与するときは、照射直後及び1時間後投与では明かな併用

による強い分裂抑制がみられるがこれに反し3, 6, 9時間後投与ではX線とMCによる効果が夫々独立して現われ、両者の併用によつて分裂抑制が著しく増強されるようなことはなかつた。これらの場合いずれの例においても担腫瘍動物の生存日数の延長は認められない。

これに反してMC 0.01mg/100g投与後X線照射を行う時は、直後、1, 3, 6, 9時間後照射のいずれにおいても明かな併用効果がみられ、著しい分裂抑制が長時間にわたり持続して認められた。担腫瘍動物の生存日数についても10~11.6日と対照群7.6日に比していずれの場合も生命の延長が認められる。

またX線照射前後にMC 0.001mg/100gを投与した場合にはX(180)+MCでは0.01mg/100gと同様に独立的な効果がみられるがその他のX(60)+MC, MC(60)+X, MC(180)+Xのいずれも両者の夫々の効果より強い分裂抑制が認められた。しかしながらこの場合の腫瘍動物の生存日数は0.001mg/100g単独投与に比して何等の併用効果も認められない。

以上の如くX(180)+MC, X(360)+MC, X(540)+MCの3例を除いていずれの場合にも両者の併用による強い分裂抑制が認められ、特にMC+Xにおいては腫瘍動物の生存日数の延長も認められている。舟山<sup>19)</sup>は先にMCによく似た作用効果をもつカルチノフィリンを用いて強い併用効果を明かにした。この場合はX線照射前後いずれの投与においても著明な分裂抑制が示され、併用の時間的間隔の長いものにおいてより著明であつた。しかしMCにおいてはMC+Xにおいてより著明であり時間的間隔の長短によつて効果に相違はない。またX+MCにおいては併用の時間的間隔の短いものが著明で、3, 6, 9時間々隔では併用による効果はなく夫々独立的に作用が現われている。これらの原因は明かでないがカルチノフィリンとMCではX線併用による反応には明かな相違が存在するようである。これらの併用効果はMC+Xでは、MCによる核質、細胞質に対する作用とX線による主として核質への作用が加わ

つてより強い抑制効果がみられるものであろう。しかしながらX+MCは直後、1時間後投与を除いて併用効果がなく独立な作用を現わすがこの実験からはこの機構を明かにすることは出来ない。本永<sup>20)</sup>、梅野<sup>21)</sup>らは、ナイトロミン、テスパミンなどのいわゆる radiomimetic agent と X線との併用において併用による強い分裂抑制が認められることはなく独立的効果を現わすことを認めている。MCは前述の如く作用効果として radiomimetic effect に類似すると考えられるが、静止核に強い影響を現わし、次いで細胞質への影響が強くみられることなどで、前者のような radiomimetic agent とは明かに異っておりそのために併用による効果にも相違が現われるものと考えられる。MCとX線を併用するにMC前処置後X線照射の場合及びX線照射1時間以内にMCを与えた場合には併用効果が認められる。これは細胞学的検索のみならず延命効果のあることから確実であると考える。

次に本実験における併用効果の機序について考えよう。

細胞分裂の機構は複雑多岐にわたるがとにかく細胞分裂を完全に阻止するには分裂機構に関係する全ての因子を障害除去することにある筈である。放射線及び radiomimetic agent と称せられる有力な手段でも細胞分裂を完全に障害することは困難である。困難であるという理由は次の三つが考えられる。

1) 作用させても作用を受けずに残される因子がある。そこから再生回復が起る。すなわち作用範囲に制限があるという考え方である。

2) エネルギー吸収が確率の法則<sup>22)</sup>に従うとすると如何に大量の処置をしても作用を受けずに残るものがあると考えられる。

3) 細胞群の中には各処理に対して抵抗の大きな個体が含まれている。すなわち生物学的変異によるとするもの

以上の3つが考えられるが我教室に於ける各種薬剤と放射線の併用効果に関する研究から本実験の併用効果の解釈には第1の考え方が理解し易

い。

本実験においては、MCとX線の両処置を行うことによつて併用効果が認められるのはMCを前処置した場合である。之はMCによつて作用されずに残つた因子をX線が優すことによつて分裂抑制が強化されたものとみえる。しかして処理順を逆にすると併用効果が認められないのはX線によつておかさねずに残つた因子に対してはMCは無効であるとすれば理解出来る。この場合、例外的にX線照射1時間以内にMCを与えた場合併用効果の認められたのは両処置の時間的間隔が非常に短いためにMC前処置と同様の効果となつたものと云えよう。

以上著者は放射線及びいわゆる radiomimetic agent と称せられるものは、分裂機構に関係する多数の因子に対して夫々作用範囲があると考へて本実験における併用効果の機序に一応の解釈を与えたものとする。

#### 結 論

MTK肉腫Ⅲを用いてMCの腫瘍細胞に対する影響と、これとX線との併用実験を、有絲核分裂頻度、分裂各期の変動、中、後期染色体の形態的異常及び担腫瘍動物の生存日数を指標として実験し、次の結果を得た。

1) MCの0.1~0.001mg/gでは投与後3時間から分裂頻度の減少を来し6時間で最低値となり以後回復に向う。0.3mg/100gでは投与後急激に減少を示し48時間後では分裂細胞は全く認められなくなつた。各分裂期にはほぼ分裂頻度に対応した変動を示した。

2) MCの投与によつて腫瘍細胞においては静止細胞、分裂細胞の両者に変化が見られる。静止細胞では核質の変化に続いて細胞質に空胞形成、泡状突起が現われ、それに次いで細胞の崩壊がみられた。分裂細胞では投与後、初期には染色体の粘着、凝集が起り、それに続いて染色体切断、絲状化、橋形成、遅滞がみられ、24~48時間後では分裂細胞の大部分はこれらの異常で占められる。

3) X線照射後MC0.01mg/100g投与では直後、1時間後投与では併用による強い分裂抑制が

みられるが、3, 6, 9時間後投与では夫々作用が独立に現われ、効果の増強は認められない。

4) MC 0.01mg/ 100g 投与後X線照射では、いずれの場合にも併用効果が認められ強い分裂抑制があつた。また明かに延命効果が認められた。

5) MC 0.001mg/ 100g とX線との併用においても0.01mg/ 100g 同様に併用効果がみられた。

6) MC及びX線との併用による担腫瘍動物の生存日数を検討したがMC 0.3~0.05mg/ 100g 1回投与で完全な腫瘍の抑制乃至著明な生命延長がみられた。また0.01mg/ 100g の場合にも僅かながら延命効果が認められた。

7) 併用効果の機序について一応の解釈を与えた。

摺筆するに当り、多大の御助力を戴いた当教室石原氏、並びに教室の皆様並びに種々御教示と御校閲とを賜つた札幌医大牟田教授に深甚の謝意を表します。

尚薬品を提供下さいました協和醸酵株式会社に厚く御礼申し上げます。

本論文の要旨は1959年日本医学放射線学会総会(東京)に於て発表した。

本研究の一部は文部省科学研究費によることを附記

し感謝の意を表します。

## 文 献

- 1) 金田, 桜井: 日医放誌, 16 (4), 400, (1956).
- 2) 桜井: 日医放誌, 16 (4), 407 (1956).
- 3) 入谷: 日医放誌, 17 (9), 1009 (1957).
- 4) 田尻: 日医放誌, 17 (11), 1266 (1957).
- 5) 若林他: 第18回日本医学放射線学会総会(東京)に発表.
- 6) R. Sugawara & T. Hata: J. Antib. Ser. A 9, 147 (1956).
- 7) T. Hata, R. Sano & R. Sugawara: J. Antib. Ser. A 9, 141 (1956).
- 8) S. Wakaki et al.: Antibiotic & Chemotherapy 8 (5), 128 (1958).
- 9) 木戸: 日医放誌 (投稿中).
- 10) H. Kanamori et al.: J. Antib. Ser. A. 120 (1957).
- 11) 芝他: Chemotherapy 5, 222 (1957).
- 12) 酒井他: Chemotherapy 5, 222 (1957).
- 13) 寺中: 大阪市大医学雑誌, 7 (4), 24 (1958).
- 14) 白淵他: 最新医学, 14 (7), 7 (1959).
- 15) K. Sugiura: Cancer Res. 19 (4), 418 (1959).
- 16) I. Usubuti et al.: Gann 49 (3), 209 (1958).
- 17) 牧野: 第10回日本医師会設立記念大会講演集別刷1, (1957).
- 18) 阿波: 遺伝学雑誌, 33 (10~11), 356 (1958).
- 19) 舟山: 日医放誌 (投稿中).
- 20) 本永: 日医放誌 (投稿中).
- 21) 梅野: 日医放誌 (投稿中).
- 22) D.E. Lea: Actions of Radiations on Living Cells, second edition, 69, Cambridge at the university press. 1955

## Studies on the Combined Effects of Radiation and Various Chemicals on the Mitotic Cells (17 Report) Effects of combined use of Mitomycin C and X-rays

By

Hiroshi sasaki

Department of Radiology, School of Medicine, Hokkaido University

(Director: Prof. M. Wakabayashi)

The present paper describes the effects of mitomycin C and its combined use with X-rays on sarcoma cells.

The MTK sarcoma III of rat, 3-4 days after transplantation was adopted as material for this study. The mitomycin C was injected in the peritoneal cavity of the rat.

The effects were revealed in four features: the frequency of mitosis, the difference of each mitotic phase in number, the frequency of abnormality of chromosomes in the metaphase and the anaphase, and the life span of the tumor-bearing rat.

The results are summarized as follows:

- 1) Mitomycin C in the amount of 0.001-0.1 mg/100g caused decrease of mitotic cells

at 3 hours after its injection. Mitotic cells became fewest at 6 hours after injection, and after that they gradually increased in number. Rapid decreases in number of mitotic cells was caused by 0.3 mg/100 g of the drug: cells all disappeared at 48 hours after injection. The mitotic cells in each phase decreased in proportion to mitotic index.

2) Mitomycin C exerted influence upon both resting and dividing tumor cells. In the resting cells, vacuoles were formed in cytoplasm following the change which occurred in the nucleus and finally the cells were destroyed. In the dividing cells, stickiness or condensation of chromosomes came to be noticed, then, such abnormalities as breakage of chromosomes, formation of chromosomal bridges, or coalescences appeared. At 24-48 hours after injection of mitomycin C, most of the dividing cells showed such abnormalities.

3) Injection of 0.01 mg/100 g of mitomycin C after X-irradiation, when the former was carried out right after or one hour after the latter, showed much stronger effect on the sarcoma to decrease its mitotic cells than the effect of either of the two alone. This greater effect, however, was not obtained when injection was carried out three, six, or nine hours after irradiation.

4) The increased combined effect in decreasing the mitotic cells of the sarcoma, was noticed when injection of 0.01 mg/100 g mitomycin C was carried out before irradiation.

5) Even a very small amount of mitomycin C, 0.001 mg/100 g, increased the effect in the combined use.

6) The combined use of mitomycin C with X-rays brought about favorable effect to strengthen the life of tumor-bearing rat; 0.05 mg-0.3 mg/100 g of the drug depressed the tumor almost completely; 0.01 mg/100 g of it also prolonged the life of the tumor-bearing rat, though the effect was less than the former case.