



Title	制癌剤感受性試験に関する研究：核酸生合成に対する抑制効果を指標とする方法について
Author(s)	里見, 隆
Citation	大阪大学, 1969, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/29864">https://hdl.handle.net/11094/29864</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed</a> 大阪大学の博士論文について

*The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA*

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

The University of Osaka

氏名・(本籍)	里見 隆
学位の種類	医学博士
学位記番号	第 1582 号
学位授与の日付	昭和 44 年 2 月 4 日
学位授与の要件	学位規則第 5 条第 2 項該当
学位論文題目	制癌剤感受性試験に関する研究—核酸生合成に対する抑制効果を指標とする方法について
論文審査委員	(主査) 教授 陣内伝之助 (副査) 教授 芝 茂 教授 坂本 幸哉

## 論文内容の要旨

## 〔目的〕

癌化学療法を行なうに際して、腫瘍の薬剤に対する感受性を治療前に予め知り、感受性のある薬剤を投与すれば治療成績がさらに向上するものと考えられる。制癌剤適応判定法として、従来から腫瘍細胞の脱水素酵素活性への薬剤の影響を指標とする方法が 2, 3 報告されている。しかし、現存の制癌剤はこのようなエネルギー産生系よりは、核酸、蛋白などの生合成への影響がより直接的な侵襲点と考えられている。そこで、この合成系に対する薬剤の影響を指標として、腫瘍組織の制癌剤感受性を *in vitro* で判定できないかと考え、教室の貴島は動物腫瘍を用いて nitrogen mustard N-oxide ( $\text{HN}_2\text{-O}$ ), mitomycin C (MMC) について基礎実験を行ない、ほぼ満足すべき成績を得たことを報告した。本研究はさらに作用機序の異なる他の薬剤 [5-fluorouracil (5-FU), vinblastane sulfate (VLB)] について基礎的な面より追求すると同時に、この方法を臨床例に応用して果して的確に感受性のある制癌剤を選出しうるか否か症例を重ねて検討した。

## 〔方法ならびに成績〕

薬剤の核酸合成抑制に関する *in vitro* での実験は、浮遊細胞  $3 \times 10^7$  コまたは結節腫瘍より Stadie-Riggs の slicer で作った厚さ  $500\mu$  の切片 200 mg を、20% 非働化牛血清添加組織培養地 TC 199 の中に浮遊させ、各濃度の制癌剤を  $37.5^\circ\text{C}$  で 4 時間作用させた後に、labelled precursor として  $^{14}\text{C}$ -formate を添加してさらに 1 時間 incubate した。次に取り出した被検材料より Schmidt-Thannhauser 法で RNA, DNA 分画を得て、それぞれ放射活性を測定し、一方、各分画を orcinol 反応、diphenylamine 反応で定量して比放射活性を算出した。

Ehrlich 腹水癌細胞  $5 \times 10^6$  コを ddO マウスの腹腔内に継代移植し、この間 20—30mg の 5-FU を隔日または連日腹腔内に注射しつづけることにより、27 代で 5-FU に対する耐性株を作ることが

できた。そこで、この耐性株細胞と無処置の感受性株細胞について *in vitro* において上記の方法にしたがい実験を行なった。結果は、5-FU 1 $\gamma$ /ml の濃度において感受性株は DNA 合成が対照のそれに比し、65%に抑制されるが、耐性株は80%とその抑制の程度は少ない。また、これら両株の細胞をマウスの背部皮下に移植して作った結節腫瘍について実験を行なった。5-FU 1 $\gamma$ /ml の濃度において DNA 合成が42%に抑制された感受性株では、*in vivo* においては腫瘍の増殖が抑えられるが、同じ濃度で 84% とほとんど抑制されない耐性株では、*in vivo* での増殖は対照とまったく同様であり、*in vitro* と *in vivo* の成績がよく対応している。

一方、VLB についても検討を加えた。まず、ラット腹水肝癌細胞 AH130, AH7974 を腹腔内に移植したラットに VLB を注射してその効果を生存曲線でみた場合、AH130 は VLB に対して感受性、AH7974 は耐性であることがわかったので、これらの浮遊細胞で *in vitro* の実験を行なった。AH130 では VLB 0.2 $\gamma$ /ml の濃度で DNA, RNA ともに 56%, 62% に抑制されるが、AH7974 では同じ濃度で 83%, 91% とほとんど抑制されない。また、これらの細胞にて作った結節腫瘍の *in vitro* の実験でも、VLB 1 $\gamma$ /ml の濃度段階で両者の細胞にその合成抑制の程度に差のあることがわかり、*in vivo* での腫瘍の増殖曲線でみた成績とよく一致する。

以上の結果より、この方法の臨床への応用を試みた。手術による切除材料を即時氷冷し、実験室でできるだけ迅速に Stadie-Riggs の slicer で厚さ 500 $\mu$  の切片を作り、以後基礎実験の際と同様の方法で感受性試験を行なった。一方、患者に投与した薬剤の効果は直接腫瘍の大きさを計測して判定した。現在まで悪性リンパ腫、乳癌、胃癌等 32 例に感受性試験を実施した。このテストで、HN<sub>2</sub>-O 8 $\gamma$ /ml, MMC 1 $\gamma$ /ml, 5-FU 1 $\gamma$ /ml の濃度において DNA 合成の抑制が強いものでは、*in vivo* での薬剤の効果が著明にあらわれ、反対に DNA 合成抑制が弱いものでは、臨床的に無効のものが多いことがわかった。そこで、それぞれの薬剤の上記濃度における DNA 合成抑制の程度を、対照の DNA 合成能を 100 として表現し、70 以下を感受性、70 以上を非感受性と判定して、臨床効果と対比してみると、*in vitro* で感受性と判定された 25 回中、臨床的にも効果のあったものが 22 回で 88% あり、また、効果のなかったものが 3 回で 12% であった。一方、非感受性と判定された 11 回中、臨床的に無効であったものが 9 回で 81.8% 認められ、逆に腫瘍が縮小したものが 2 回で 18.2% であった。これらを総合してみると、感受性試験の成績と臨床効果とが一致したものが 86.2% であり、この方法が臨床的に十分利用しうると思われる成績を得た。

#### 〔総括〕

- 1, Ehrlich 腹水癌細胞を ddO マウスの腹腔内で継代移植中に 5-FU を隔日または連日注射することにより、27代で 5-FU に対する耐性株を作ることができた。
- 2, この耐性株細胞と無処置の感受性株細胞とは *in vitro* で 5-FU 1 $\gamma$ /ml の濃度で、主として DNA 合成抑制を指標とすることにより区別することができる。
- 3, *in vivo* の実験で VLB に対してラット腹水肝癌細胞 AH130 は感受性、AH7974 耐性であることを知った。*in vitro* では VLB 1 $\gamma$ /ml を中心とした濃度段階で、この 2 つの細胞の DNA, RNA 合成抑制の程度に差が認められ、*in vitro* と *in vivo* の成績がよく一致する。
- 4, 現在まで悪性リンパ腫、乳癌、胃癌等 32 例について制癌剤感受性試験を実施した。その結果、

HN<sub>2</sub>-O 8r/ml, MMC 1r/ml, 5-FU 1r/ml の濃度における DNA 合成の抑制の程度と実際に投与した薬剤の効果とが一致したものは86.2%であり、制癌剤感受性試験として比較的良好な結果を得ている。

### 論文の審査結果の要旨

現在、臨床的に使用されている主な制癌剤の作用機序に基づいて、腫瘍組織の核酸生合成に対する抑制効果を指標とする制癌剤感受性試験法を試み、まず、動物腫瘍を用いて、その基礎的な成績を得るとともに、さらに、この方法を臨床例に応用して、的確に適合制癌剤を選択しうることを明らかにした。