

〔特別掲載〕

(東京女医大誌 第30巻 第11号)
(頁2410—2421昭和35年11月)実験的腫瘍における⁶⁰Co照射及び化学的療法剤
投与の影響に関する組織化学的研究

東京女子医科大学産科婦人科学教室 (主任 川上博教授)

高 橋 文 子
タカ ハシ フミ コ

(受付 昭和35年9月26日)

目 次

I 緒 言

II 実験材料及び実験方法

(1) 実験材料

- a) 実験動物
- b) 移植方法

(2) 実験方法

- 1) ⁶⁰Co照射法及びナイトロミン投与方法
- a) ⁶⁰Co管照射法
- b) ナイトロミン投与方法
- c) ナイトロミン・⁶⁰Co照射併用法

2) 固定及び染色方法

- a) 核酸の固定, 染色方法
- b) 多糖類の固定及び染色方法
- c) 酵素(アルカリ性ホスファターゼ)の固定及び染色方法

III 実験成績

- (1) 核酸について
- (2) 多糖類(PAS陽性物質及びグリコーゲン)について
- (3) 酵素(アルカリ性ホスファターゼ)について
- (4) 小 括

IV 考 按

V 結 語

I 緒 言

悪性腫瘍の早期発見, 早期治療の観点から, その発生機序, 腫瘍組織の成長過程に関する臨床, 基礎両面からなる研究は, 古来幾多の人々により行われ, その業績は

莫大のものであり, 悪性腫瘍の治療, 予防という実際面に大きな寄与をなしているが, しかも尚現在多くの未解の問題を残している。今日悪性腫瘍の治療法として, 1) 観血的療法 2) 各種癌化学療法 3) 種々放射線療法, に大別されている。

癌化学療法に関する研究は最近著るしく, その効果については, 実験腫瘍学的には期待し得るも臨床的には, 一時的又は一部の例にのみその効果は認められるものであり, 又耐性出現についても指摘され, 今日未だ満足すべきものは見あたらない。一方放射線療法は, X線装置の改良ならびに各種放射性同位体の利用により, 癌に対する治療効果が一段と向上進歩した。放射線の作用機序, 癌の治癒線量などの研究によつて, 今後ますます臨床的に応用されるべきものであろう。悪性腫瘍に対する決定的治療方法の認められない現在においては, 種々の癌化学療法剤及び放射線療法, あるいは, これらの併用効果についての研究は, はなはだ重要なものである。

腫瘍組織は異常に活発なる増殖力を一特徴として, 物質代謝においても他の組織に比して著しい変化があるものと予測されている。

従来多くの研究は, 実験条件の統制が容易にして, 感受性が高いといわれている腹水腫瘍, 組織培養等により行われ, 実質性腫瘍組織を対象とした実験はきわめて少い。又腫瘍組織の形態学的変化及び生化学的研究が追求されているにもかかわらず形態と機能を結びつけ両者の関連性を究明する試みは腫瘍形態の多様性と腫瘍組織の代謝過程の複雑さなどのためにいまだ十分な成果は得ら

れていない。

著者は比較的臨床条件に近づけるため、マウス皮下移植エールリッヒ癌を用い、現在婦人科領域において広く用いられている⁶⁰Co照射及び最も代表的な癌化学療法剤として使用されているナイトロミンの影響及び両者併用効果について組織化学的研究(核酸、多糖類及び酵素に対して)を行い、それらの消長を鑑察し、腫瘍組織の代謝についての実験を行い、各比較検討を行ったので報告する。

II 実験材料並びに実験方法

(1) 実験材料

- a) 実験動物：dd系マウス体重16~18gのものを約10日間、一定条件下において飼育後実験に使用した。
- b) 移植方法：癌研究所より恵与を得たエールリッヒ腹水癌を雄性マウスの腹腔内に接種し、腹水腫瘍として約一週間後に継代した。実験にさいしては、腹腔内接種後約7日目に腹水腫瘍より腹水を採取し、この0.03cc宛を雌性マウスの背部皮下に接種し皮下腫瘍を生ぜしめ約14日後に明らかな膨隆を認め外部より腫瘍の認められるものをえらび用いた。

(2) 実験方法

1) ⁶⁰Co照射法及びナイトロミン投与方法

a) ⁶⁰Co管照射法

マウス背部皮下に腹水癌0.03cc接種後約14日目外部より腫瘍明らかに認められるものを、固定板上に腹臥位に固定し、腫瘍上、皮膚面上より⁶⁰Co管(有効長20mm, 直径1.6mm, 照射量16.2mc)を密着せしめテープにて固定する。2時間照射後固定板より取りはずし再び水及び餌料を与えた。

b) ナイトロミン投与方法

上記a)同様腫瘍の明らかなるものに、ナイトロミン10mg/kgを1日1回、3日間連続腹腔内注射によつて行つた。

c) ナイトロミン・⁶⁰Co照射併用法

⁶⁰Co照射前3日間にわたり、ナイトロミン10mg/kgを1日1回腹腔内注射によつて行つた。

2) 固定及び染色方法

⁶⁰Co照射群、ナイトロミン投与群、ナイトロミン・⁶⁰Co照射併用群及び未処置腫瘍群に分類し、各⁶⁰Co照射、ナイトロミン投与終了、24時間後にエーテル吸入法により殺したマウスの腫瘍組織中央部より切断し、その切断面の全面を研究材料として使用のため、直ちに夫々目的に応じた固定液に入れ固定を行つた。

a) 核酸の固定、染色方法

i) Unna¹⁾氏染色法 (Brachet氏法)²⁾

Carnoy氏液にて3時間固定、5 μ パラフィン切片作製、Unna氏液にて25分間染色を行つた。

ii) チオニン染色法

Zenker-Formol液にて24時間固定、5 μ パラフィン切片作製、0.1%、pH4.5(McIlvaine氏緩衝液)の溶液で室温において24時間染色を行つた。

i) ii) の対照として、リボニュークレアーゼにより処置したものをを用いた。

iii) Feulgen氏反応³⁾

Zenker-Formol固定24時間後、5 μ パラフィン切片作製、Schiff氏試薬にて1.5時間染色を行つた。対照として切片を1nHClで洗滌、1分間後1n, HCl, 60°Cで4分間浸漬し、加水分解したものをを用いた。

b) 多糖類の固定及び染色方法

(PAS陽性物質並びにグリコゲンについて)

i) McManus氏法⁴⁾ (PAS染色)

Zenker-Formol液にて24時間固定、5 μ パラフィン切片作製、1%過沃素酸液にて酸化後、Schiff氏試薬で染色を行つた。

対照として1%ジアスターゼ溶液にて1時間消化後染色したものをを用いた。

c) 酵素(アルカリ性ホスファターゼ)の固定及び染色方法

i) Gomori氏法⁵⁾

冷アセトン液にて24時間固定、5 μ パラフィン切片作製、37°C、pH=9.4の基質液中に4時間入れ、1分間洗滌後2%コバルト塩溶液に5分間、蒸溜水にて1~2分洗い、稀硫化アンモニウム液に5分間後、流水にて数分間洗い、脱水封入後鏡検に供した。又切片を熱湯に数分間つけ非活性化したものを対照として用いた。

なお一般的組織学的検索には、すべてにつきヘマトキシリン・エオジン染色を行い比較検討を行つた。

III 実験成績

(1) 核酸について

a) 対照群(未処置腫瘍群)

癌細胞はその形態の多型体と共に組織化学的所見もきわめて多様性であるが、その一般的所見としては癌細胞核はFeulgen反応(DNA)メチル緑染色(DNA)が陽性で、細胞質及び核小体はピロニン染色(RNA)が陽性であり、細胞質はびまん状あるいは微細顆粒状を呈し均等性に認められ、核小体のピロニン染色性は細胞質に比して一般に高く、又大きな癌瘍ではその周辺部の細胞は中心部の細胞に比して、ピロニン・メチル緑染色の陽性度が稍強い様である。

チオニン染色では全体として染色性強く、核小体を認め、細胞質はほぼ均等に紫赤色に染まり、メタクロマジンを呈し、細胞質の染色は一般に稍高度でびまん性、間質細胞では淡紫色に染色されるも染色性は低い。

b) ナイトロミン単独群：

形態学的変化として腫瘍細胞の減少及び変性像がみられ、核の膨化、濃縮、融解も認められる。しかし形態学

的变化を示さない癌細胞におけると同様、染色像には変化を認めなかつた。

c) ^{60}Co 単独照射群：

腫瘍細胞の形態学的変化が著明に現れ、細胞数減少高度となり、細胞質の空胞変性、核の膨化、濃縮融解等を認め、全体として染色性低下する。細胞質のピロニン染色性低下し、核周囲又は細胞周辺部、細胞質の一側に偏在して染まる。核はメチル縁に淡染性となる。Feulgen 反応は全般に弱くなるが時としては強陽性のものも存在し、各細胞間の陽性度の差がみられた。

d) ナイトロミン・ ^{60}Co 照射併用群：

腫瘍細胞の形態学的変化が ^{60}Co 単独照射群に比して強く現れ、細胞数減少もより高度に認めると共に細胞変性も高度となり、細胞質の空胞変性、核の膨化、濃縮、融解はなほだしくピロニン・メチル縁染色、チオニン染色、Feulgen 反応いずれの染色性も低下著しく、 ^{60}Co 単独照射群に比して、より低下することを認めた。

(2) 多糖類 (PAS 陽性物質及びグリコーゲン) について

a) 対照群

PAS 染色法によれば腫瘍細胞はほとんどに弱いびまん性の淡紅色を呈す。大きい病巣の中心部では細胞質に弱いし中等量陽性を示すことがあり、ジアスターゼにより消化させる。間質のPAS染色は種々であるが一般に弱いし中等量陽性でジアスターゼにより消褪しない。

b) ナイトロミン単独群

形態学的変化として腫瘍細胞減少、変性像認め、細胞質に弱いし中等量陽性と出現す。また細胞質周辺部に偏在し、間質においても陽性を示した。

c) ^{60}Co 単独照射群

腫瘍細胞の変性中等度の部分では、ナイトロミン同様中等量陽性を示すも細胞変性が高度となると共に減少し、またジアスターゼ消化により消褪しない陽性を認め、間質では弱いし中等量陽性の変化を呈した。しかし逆に弱陽性あるいは陰性化することもあつた。

d) ナイトロミン・ ^{60}Co 照射併用群

^{60}Co 単独照射とほとんど同様細胞変性像を生じ細胞変性部に弱陽性を呈し、細胞変性高度の部分では染色性著明に低下し陰性化の傾向を認めた。

(3) 酵素 (アルカリ性ホスファターゼ) について

a) 対照群

アルカリ性ホスファターゼは全例において腫瘍細胞、間質共にほとんど陰性を認めたが、細胞変性過程の著明なものでは弱陽性を示すこともあつた。

b) ナイトロミン単独群

ナイトロミン投与により細胞質に弱陽性を認め腫瘍細胞の変性過程において細胞質、核共に弱いし中等量陽性を示し、形態的変性像を示さない癌細胞にも認められた。

c) ^{60}Co 単独照射群

腫瘍細胞の変性、退化像が著明に現れ、中等度のアルカリ性ホスファターゼを認めるも細胞崩壊が高度になると著明にその減少を示した。

d) ナイトロミン・ ^{60}Co 照射併用群

腫瘍細胞の変性高度の部分ではアルカリ性ホスファターゼは減少し、なお退化過程にある細胞は弱いし中等量陽性認め、染色性は不規則に現れるものもある。

(4) 小 括

皮下移植エールリッヒ癌について、ナイトロミン単独群 ^{60}Co 単独照射群及びナイトロミン・ ^{60}Co 照射併用群につき、核酸、PAS陽性物質及びグリコーゲン、アルカリ性ホスファターゼ等の組織化学的検索を行い、対照群と各比較検討を行った。

まず核酸については、対照群では RNA・DNA 共に中等量認め、ナイトロミン単独群ではその染色性に著差認めず、 ^{60}Co 単独照射群では腫瘍組織の形態的变化と共にすべての染色性低下し、両者併用群においては、 ^{60}Co 単独照射群のものよりはるかにその染色性に低下を認めた。

一方腫瘍組織では間質、細胞質にPAS陽性物質を認めるも、ジアスターゼにより消化されないものも存在した。ナイトロミン及び ^{60}Co 照射によつて、腫瘍細胞の変性像が現れたものに弱いし中等量陽性を認め、ナイトロミン・ ^{60}Co 照射併用群のごとき、高度の細胞変性に陥ると共に染色性低下し、陰性化の傾向をとつた。

次にアルカリ性ホスファターゼについては全例において腫瘍細胞、間質に殆んど陰性であつたが、PAS陽性物質の出現と同様に腫瘍細胞の変性、退化過程に現れ、ナイトロミン及び ^{60}Co 照射により生じた細胞の退化過程の著明なものでは中等量陽性を認めた。しかし ^{60}Co 照射およびナイトロミン・ ^{60}Co 照射併用群のごとく細胞の変性、崩壊が高度になると陰性を呈した。

IV 考 按

悪性腫瘍の治療に関する研究は最近著しく治療効果も一段と向上、進歩した。しかしながら今日なお、決定的な見解はない。悪性腫瘍と放射線感受性の問題については、Glucksmann⁶⁾、Graham⁷⁾、Gusberg⁸⁾ 等により組織学的、腔内容塗抹検査あるいは細胞化学的所見から種々論じられているも一致した見解はない。癌細胞に対する放射線感受性の研究も癌細胞に重点をおくか、他の細胞との関係に重点をおくかで方法が異つてくる。一方化学療法に関する研究も著しく発展し、その効果について論じられている。実験的悪性腫瘍は人悪性腫瘍の研究に欠くことのできぬものであり、その種類も多く各の性質もことなる。我国においては実験条件の統制が容易で、化学療法剤等に感受性の高いといわれる腹水癌が実験に多く用いられている。今回の実験では癌細胞に重点

をおき現在利用し得る癌の中、癌研究所より恵与をうけたエールリッヒ腹水癌をマウス皮下に移殖し、皮下腫瘍をつくり臨床的に近づける様努力した。

癌細胞の放射線による形態学的変化について Lahm⁹⁾, Dyroff¹⁰⁾, Smith¹¹⁾ 等の報告があり、細胞質の空胞変性、核の膨化、濃縮、融解等が指摘されているが、放射線の波長とその生物学的作用の関係については、多くの研究にもかかわらず未だ定説はない。しかしながら入江¹²⁾、塚本¹³⁾、山下¹⁴⁾、Nolan¹⁵⁾、岩井¹⁶⁾等は⁶⁰Co照射が従来のX線に比して臨床的效果がすぐれていると報告し、形態的变化はX線の場合と同様の所見を示すといっている。

著者の成績によれば⁶⁰Co照射による所見は、これらの報告と本質的に変化なく、癌細胞の変化像の過程がみられた。一方細胞や組織が形態的变化を示す以前に機能的に変化のおこることは当然考えられる。そこで癌組織の反応及び機能を考察するために組織化学的検査を行った。河原¹⁷⁾は癌腫の組織化学的検査によつて現わされる核酸の消長、アルカリ性ホスファターゼの消長及びPAS染色所見等により癌腫の発育状況、又これに関連する間質所見は密接な関係を有する様にみえると述べている。

§ 核 酸

悪性腫瘍の特徴の一つは他の組織に比して発育、増殖の異常に旺盛なことであり、それが無制限に進行することにある。現在において核酸は細胞の分裂、増殖、代謝等生物学的功能に重要な意義を有し、一方細胞の生活現象における蛋白合成、分泌等をも調節支配することが考えられ、腫瘍組織における核酸代謝は非常に重要なものである。

Caspersson¹⁸⁾等の研究によれば、癌組織には2つの型の細胞がみられ、普通の大きさの核と中等大の核小体を有しDNAの濃度が高く、細胞質の量は普通以下でRNAと蛋白濃度が高いA型細胞と、DNAの濃度が低く大型の核及び多量のRNAを含む大きな核小体を有し、細胞質は大きい蛋白濃度が低く、RNAも少いB型細胞があり、A型細胞は増進の盛んな部位に、B型細胞は退行的な部位に多く存在すると述べている。又青木¹⁹⁾、大根田¹⁹⁾等は同一癌塊では増殖部の細胞にピロニン染色陽性度が強く、変性壊死部ではこれが陰性に傾くと述べ、安田²⁰⁾等も増殖の盛んな部分にRNA・DNAの活性度が比較的高いことを認め、染色性は不規則となる。政山²¹⁾らの悪性腫瘍における核酸の定量的研究では、化学的研究より細胞の急激な増殖との間に関係があることを報告した。併しSandritter²²⁾は必ずしもCasperssonらの説を肯定せず、癌細胞ではDNAの増量は常に認めるがRNAについては必ずしも増加するとは限らないと述べている。なおRNAについても同様所見が確かめられている。政山・²¹⁾、富永²¹⁾らも核酸の定量から急激な細胞

増殖とRNAとの関係を指摘している。

一方 Santesson & Caspersson, Brachet²³⁾らによつてRNAは組織の成長、増殖を行う細胞質での蛋白合成に、DNAは細胞核の遺伝因子の蛋白合成及び細胞分裂の過程に密接な関係があると明らかにされた。したがつて発育増殖の著明な腫瘍組織ではRNA・DNAが認められ特にRNAが多いといわれている。なお細胞質にRNAの多いものとして 1) 急激に増殖しつつある細胞(癌、胚、造血組織) 2) 蛋白質を分泌する細胞(脾、唾腺、肝) 3) 細胞の中に蛋白質を蓄積しつつある細胞(卵細胞)などをあげている。

X線照射時、細胞核酸に及ぼす影響については、Mitchell²⁴⁾、Stowell²⁵⁾、武田²⁶⁾、永井²⁷⁾、柴谷²⁸⁾らの研究があり、その作用機序の本態に関する見解は種々であるが、一般にX線がDNAの合成を特異的に抑制し、細胞の分裂、組織の増殖を抑制すると考えられている。Gusb_erg²⁹⁾は放射線療法開始前及び開始後一週間毎に試験的切除を行い、細胞をDNAに富むA細胞、RNAにとむB細胞、ABの中間型のT細胞、クロマチン量は豊富であるが核の膨化、空胞化がおり、放射性変化を示すR細胞との4型に分類しA型細胞優勢のものがB細胞優勢に変化する場合、すなわちDNA/RNAの比がRNAの方へ傾く程度と臨床効果及び予後との関係に平行関係がみられると述べている。

著者の成績をみると、 γ 線照射により癌細胞は膨大腫脹し、細胞質のピロニン染色低下し、核はメチル緑染色性となつており、CasperssonのいわゆるB細胞に移行することを認めた。このことは細胞に代謝障害がおこつたことを意味する。又Feulgen反応は各細胞間の陽性度に著しい差異を認め、その染色性は多様性を呈する。これは照射により腫瘍細胞が変性するため障害された細胞と活力を有する細胞が混在することを示すものである。

ナイトロミン併用により更に変性高度となるとメチル緑染色性著しく低下し、Feulgen反応も陰性化する所見をみたが、小杉²⁹⁾の述べているごとく染色性の濃淡のみをもつて該細胞の核酸量、ひいてはその発育、機能の状態を論ずることは危険であり、核酸染色のみにより放射線感受性及び予後を推定することは困難である。

§ PAS 陽性物質及びグリコーゲン:

Warburg (1930) 以来腫瘍組織において異常に旺盛な解糖作用を営むことは多くの学者により認められており、又その分布についても諸家の報告がある。腫瘍組織のグリコーゲン量についての報告もまちまちで、マウス肝癌はそれを有するも、ラット肝癌、Jensen肉腫には僅少あるいは欠如するといわれている。しかし癌細胞内のグリコーゲン顆粒を始めて記載したのは、Schiele³⁰⁾であり、その後Langhans³¹⁾、等多くの報告が行われて

いるが、今日なお腫瘍組織のグリコーゲンの意義については不明である。例えば Fichera³²⁾ は旺盛な増殖と新陳代謝の亢進の現われとし、Müller³³⁾ によれば逆に生活力の減退、新陳代謝の衰頹を意味すると述べている。

Gierke³⁴⁾ はグリコーゲンがある程度の血行障害をうけた細胞組織によく沈着することから、腫瘍細胞のグリコーゲンは血液供給不足によるものと考え、栄養物質が絶対に供給されない時、グリコーゲンが現れないと述べた。Bernard, Barfurth³⁵⁾ らは胎生組織中グリコーゲンを含有しないものが少なく、肝細胞でも妊娠の前半、即ち成長機転の旺盛期においてさえ、グリコーゲンを含まないことより、グリコーゲンの出現をもつて直ちに新陳代謝亢進の表現と解せず我国においてはすべて腫瘍細胞内におけるその意義を消極的に細胞の生理的機能の衰退によると解釈している。高橋³⁶⁾ によれば PAS 反応と唾液処理の併用により観察し、扁平上皮癌では角化傾向を有するものは大量のグリコーゲンを認め、その反応は非常に不規則で一般に正常よりも減少している様に思われ、又吉田肉腫のグリコーゲンは極めて少いが、殆んど証明されず、これに反して肉腫細胞に空胞形成、核の膨化濃縮などの生活や増生の低下を思わせるものでは、グリコーゲン顆粒がかなり認められると述べ、このことより一般に腫瘍細胞におけるグリコーゲンの出現は必ずしも細胞の発育増殖の旺盛なることを意味するものではなく、むしろ細胞機能の低下、あるいは変性と関係あると考えている。又唾液処理により消化されないびまん性の弱い PAS 反応が腫瘍細胞の細胞質及び間質結合織に認められ、これらは細胞や組織の構成に参与するといっている。

著者の成績をみると対照群においては、PAS 陽性物質を細胞質間質に認め、ジアスターゼ消化により大部分のものに消褪を認めず、しかしナイトロミン及び⁶⁰Co照射によつて、腫瘍組織の変性像があらわれると共に陽性度高くなり又高度の変性に陥ると共に減少する。このことより PAS 陽性物質は細胞機能低下、すなわち代謝障害をいみし、癌細胞の旺盛な解糖作用が障害された結果出現すると考えられる。

§ アルカリ性ホスファターゼ

Mc Callum & Hart (1708) が動物組織にホスファターゼが存在することを見出して以来、多くの研究により注目をあびたがその生物学的意義については、なお幾多の問題を残しているが、一般に含水炭素、燐脂質、核蛋白等、生体内における重要物質の新陳代謝に関与し、蛋白合成、組織再生にも密接なる関係があり、特に燐の生物学的意義が、重要視されている現在において、アルカリ性ホスファターゼの研究は極めて重要である。腫瘍のアルカリ性ホスファターゼの研究について高松³⁷⁾、大月³⁸⁾、安田³⁹⁾、翠川⁴⁰⁾等の報告があり、子宮扁平上皮腫瘍

では陰性ないし弱陽性を示すもの多く、青木⁴¹⁾、Kabata⁴²⁾、河原⁴³⁾、屋代⁴⁴⁾等は、本酵素は癌細胞の退行変性過程に關すると述べ青木らは抗癌剤投与による癌細胞の退化過程においてもアルカリ性ホスファターゼを認めている、著者の成績では対照癌組織では陰性を示し、ナイトロミン投与及び⁶⁰Co照射により弱陽性に現われ、退行過程の進行と共に陽性度を増すも完全な壊死に陥ると再び陰性となる。この所見はグリコーゲンの消長と同様の態度をとり、これもやはり⁶⁰Coおよびナイトロミンによる癌細胞の機能障害を意味するものと考えられる。一方間質のアルカリ性ホスファターゼについて大月、Manheimer⁴⁵⁾らは毛細血管に陽性を示すことを認め大月は間質結合織のアルカリ性ホスファターゼ反応は炎症と関係があると述べ、富田は炎症とは無関係に、又腫瘍細胞のアルカリ性ホスファターゼ反応とも無関係に間質のアルカリ性ホスファターゼ反応の消長は、それ自身の動きに關係していると述べている。又河原は間質反応とアルカリ性ホスファターゼの間には密接な関係があり、肉芽性間質の増殖をみる部では著明に陽性となると述べ、Fell⁴⁶⁾等は損傷治癒機転における膠原線維形成にアルカリ性ホスファターゼが関係すると推定し、Gould⁴⁷⁾、French⁴⁸⁾等も結合織増殖にアルカリ性ホスファターゼの出現を認めているがその意義についての見解は一致していない。

一方癌化学療法剤については、種々の化学薬剤が発達し試みられているが、それらの効果については、実験腫瘍学的には期待しうる幾つかの確実な根拠を有するが、臨床的には現在なお決して満足の域に達しておらず、又耐性出現についても指摘される。従つて数種の化学療法剤の併用、放射線療法との併用による効果の増強等を対象とする多くの実験報告が行われている。治療効果の増強を目標とする併用実験について Bane, Conrad, Tarnowski⁴⁹⁾等は

- 1) 放射線と制癌物質の併用
- 2) 放射線と非制癌物質の併用
- 3) 腫瘍内に照射効果増強物質の導入

等を実験内容を分けている。しかし最も注目されたのは代表的な化学療法剤として実際によく使用されているナイトロミンのごとき、所謂 radiomimetic substance であり、その作用は放射線の効果に類似しいることが知られている。Karnofsky^{55) 56)} (1947) は nitrogen mustardにより、腫瘍細胞を分裂中期にて止め、この時期に X線照射を行い顕著な制癌効果を得、又この組合せを逆にし、X線照射を先行した場合には、効果を認めなかつた。またマウス X線全身照射後、nitrogenmstard を投与し死亡率に明らかに相加効果を認めたが逆の場合には相加効果はほとんど認めなかつたと述べている。

化学療法剤の作用点に関しては、三浦⁴⁸⁾は現在臨床的

にいくらかでも効果の認められる制癌剤は核酸代謝，すなわち DNA 代謝の阻害剤であると述べ嫌気性，好気性解糖，呼吸，酸化的燐酸化過程等の現象にかなりの差異を認めるといつている。最近においては組織培養法により，Miller⁵⁰⁾，野嶽^{51) 52) 53)}，大塚⁵⁴⁾らは，各種制癌剤，放射線の影響を各感受性の判定および併用効果につき検討し，その併用効果を認めている。本実験においてはこれらの点を腫瘍組織の組織化学的検索によつて解明するために，⁶⁰Co 照射前 3 日間，ナイトロミンの連続投与を行い比較検討した。その成績によればナイトロミン及び⁶⁰Co 単独照射群における腫瘍細胞は癌細胞の変性崩壊をきたし，一方腫瘍細胞に生じた細胞代謝機能の変化を組織化学的にみるとナイトロミン単独群では，癌細胞の変性像を認めたが RNA・DNA に著変認めず，⁶⁰Co 単独照射群では癌細胞の変性像高度となり RNA・DNA 共に減少し，PAS 陽性物質及びアルカリ性ホスファターゼはナイトロミン及び⁶⁰Co 照射によつておこる細胞機能の低下に比例して出現する様である。したがつてナイトロミン・⁶⁰Co 照射併用群においては，腫瘍細胞の変性像著明となり，RNA・DNA 共に著しく減少し，PAS 陽性物質及びアルカリ性ホスファターゼについても各単独照射群に比して変化大となりその併用効果が認められる。

現在癌化学療法における併用療法は本邦癌学会においても主力を注ぎ，多数の臨床報告がみられそれら併用効果を肯定する傾向にある。特に臨床効果の検討に主力がおかれ，今後ますます発展すると考えられる。

第 V 章 結 語

実験的腫瘍をマウス皮下に移殖し，その腫瘍組織について組織化学的検索により，未処置群とナイトロミン・⁶⁰Co 照射併用群およびそれぞれの単独作用群と比較検討した。

1) 対照群 (未処置群)

核酸は RNA・DNA 共に中等量認め，PAS 陽性物質は陰性か弱陽性を示し，大きい病巣ではグリコーゲンの存在も認められる。またアルカリ性ホスファターゼはほとんど陰性を呈す。

2) ナイトロミン単独群

腫瘍細胞数減少，細胞変性像を認めるが，RNA・DNA には著変を認めず。PAS 陽性物質およびアルカリ性ホスファターゼは細胞変性の生じたものに陽性に現れ，その変性像に応じて不規則な染色性を呈した。

3) ⁶⁰Co 単独照射群

腫瘍細胞数減少，細胞変性度高度となり，RNA・DNA は著明に減少し，PAS 陽性物質及びアルカリ性ホスファターゼの出現を認め，高度の細胞変性に陥ると共に減少した。

4) ナイトロミン・⁶⁰Co 併用照射群。

腫瘍細胞数減少及び細胞変性像高度に認め，RNA・

DNA の減少も著しく，PAS 陽性物質及びアルカリ性ホスファターゼにおいては陽性あるいは陰性を示し，各単独群に比してその変化は著明に認められた。

稿を終るに臨み，御懇篤なる御指導を賜つた恩師故柚木教授に深謝を捧げます。又，御指導御校閲を戴いた川上教授，大内助教授に深く感謝いたします。と共に本学解剖学教室飯沼教授の技術面における御助言に対し深謝いたします。

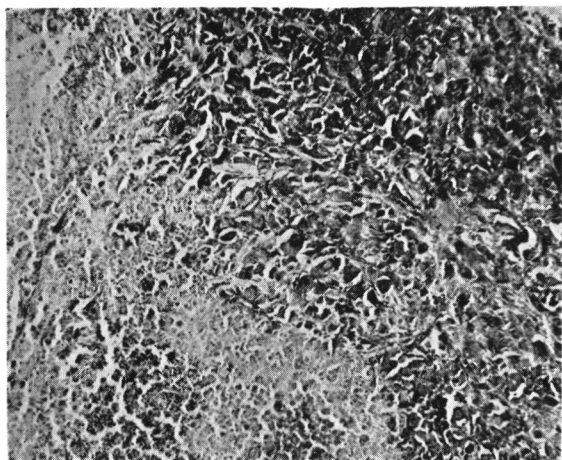
「なおエールリッヒ癌腫を患与された癌研究所に謹んで謝意を表します。」

本論文の一部要旨は和昭35年4月第12回産科婦人科学会総会において発表した。

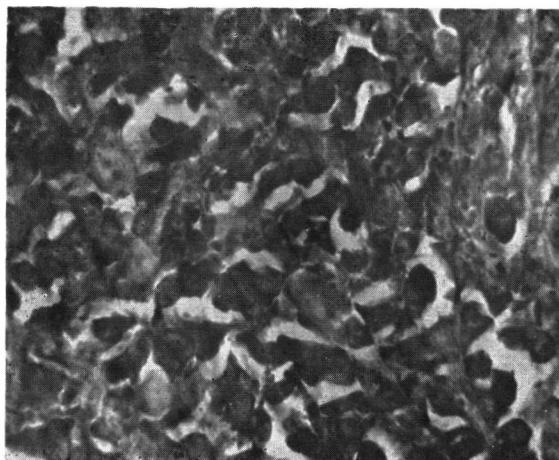
参 考 文 献

- 1) 岡本耕造・上田政雄・前田隆英：顕微鏡的組織化学 160 (1955)
- 2) " 161 (1955)
- 3) " 148 (1955)
- 4) " 219 (1955)
- 5) " 419.420 (1955)
- 6) Glucksmann, A. et al.: J Obstet Gyn Brit Emp. 55, 513 (1948)
- 7) Graham, R. M.: Surg Gyne Obstet., 99, 555 (1954)
- 8) Gusberg, S. B.: Amer J Obstet Gynec. 72, 804 (1956)
- 9) Lahm, W.: Strahlentherapie 25, 22 (1927)
- 10) Dyroff, R.: Arch Gyniäk., 136, 141 (1929)
- 11) Smith, C. J.: Amer J. Obstet Gynek., 73, 598 (1956)
- 12) 入江英雄他：最新医学 10, 2081 (1955)
- 13) 塚本 憲甫：日本医学放射線学会雑誌 17, 435 (1957)
- 14) 山下 久雄：癌 46, 847 (1956)
- 15) Nolan, J. F. et al.: Amer J Obstet Gynec. 72, 784 (1956)
- 16) 岩井 正二：日本産婦人科学会雑誌 10, 617 (1958)
- 17) 河原 修三：医学研究 26, 1828 (1956)
- 18) Caspersson, J.: Naturwiss 29, 33 (1941)
- 19) 青木貞章・大根田玄寿他：癌 43, 223 (1954)
- 20) 安田竜夫他：日病会誌 42, 1 地方会号 11 (1953)
- 21) 政山竜徳・富永 悌：癌 37, 288 (1943)
- 22) Sandritter, J.: Naturwiss 39, 46 (1952)
- 23) Brachet, J.: Arch Biol 48; 529 (1937)
- 24) Mitchett, J. S.: Brit J exp Path 23; 285, 296, 309 (1942)

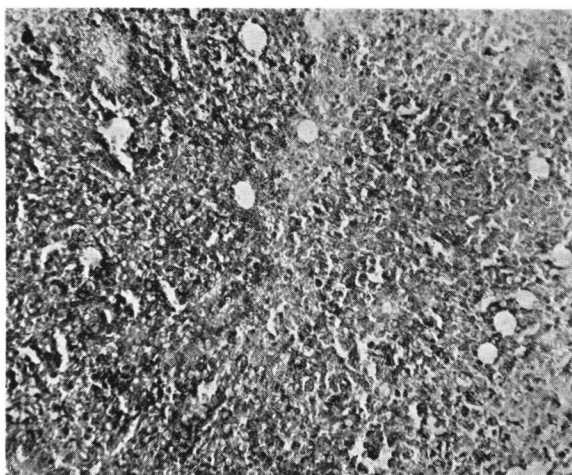
- 25) **Stowell; R. E.** : Cancer Res., 5 169 (1945)
- 26) **武田 勝男** : 医学通信, 4, 185 (1949)
- 27) **永井 顕爾** : 日本医事新報, 1537, 27 (1953)
- 28) **柴谷 篤弘** : 最新医学 14, 565 (1959)
- 29) **小杉 茂** : 東京慈恵会医科大学雑誌 72, (8) 1659 (1957)
- 30) **Schiele, W.** : Das Glykogen in normaler und pathologischer Epithelien. ID Born. 1880 V. Gierke より引用
- 31) **Langans T.** Virch Arch Bd 120, 1. 28 (1890)
- 32) **Fichera, G.** : Beitr Path Anat 36, (2) 273 (1904)
- 33) **Müller, F.** : Ubes die Vorkommen und die Verteilung des Glykogens in Geschwülsten ID. Zurich, 1899 (Best より引用)
- 34) **Gierke, E.** : Beitr path Anat 37, (8) 502 (1905)
- 35) **Barfurth.** : Arch mikrobiol Anat., 25, 250 (1885)
- 36) **高橋 寿一** : 大阪大学医学雑誌 9, 167 (1957)
- 37) **高松英雄他** : 日病会誌 40, 1 (1951)
- 38) **大月 俊夫** : 満州医誌 37, (1942)
- 39) **安田竜夫他** : 日病会誌 40, I (1951)
- 40) **翠川 修他** : 日病会誌 42, 地方会 (1953)
- 41) **青木貞章他** : 癌 46 447 (1955)
- 42) **Kabat, F. A.** : Amer J Path 17, 303 (1941)
- 43) **河原 修** : 医学研究 26 (7) 1828 (1956)
- 44) **屋代 定夫** : 日産婦誌 8. (1225) (1956)
- 45) **Manheimer, L. H.** : J. J. Nat Cancer Inst; 9. 181 (1948)
- 46) **Fell, H. B.** ; Brit J exp Path 24, 196 (1943)
- 47) **Gould, B. S.** : A-M A Arch Path., 52, 413
- 48) **French, J. E.** ; A M A Arch Path. 57, 352 (1954)
- 49) **三浦 義彰** : 日本医師会雑誌 42; 193 (1959)
- 50) **Miller, N. F., Ludouci, P. P., Christian, R. T. & Riller, G. M.** : Amer J Obstet & Gynec. 76, 1071 (1958)
- 51) **野嶽 幸雄他** : 岡山医学会雑誌 70; 25, (1958)
- 52) **野嶽 幸雄他** : 産婦の実際 8; 55 (1959)
- 53) " : 産と婦 26; 17 (1959)
- 54) **大塚 勝章** : 慶応医学 37, 6869 (1960)
- 55) **Karnofsky, D. A.** : Approaches to tumor chemotherapy 293, (1947)
- 56) " : Cancer Res. 7; 30 (1947)



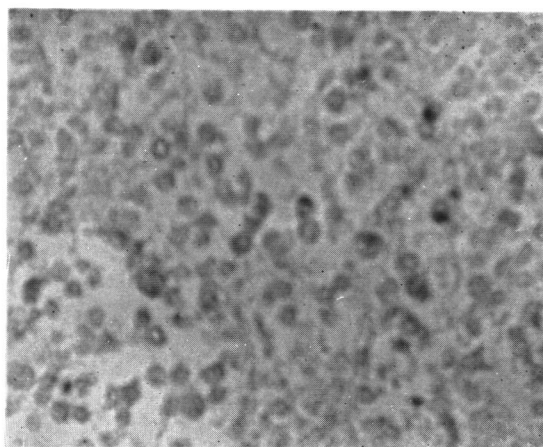
第1図 核酸 (Unna氏染色)
対照群 弱拡大



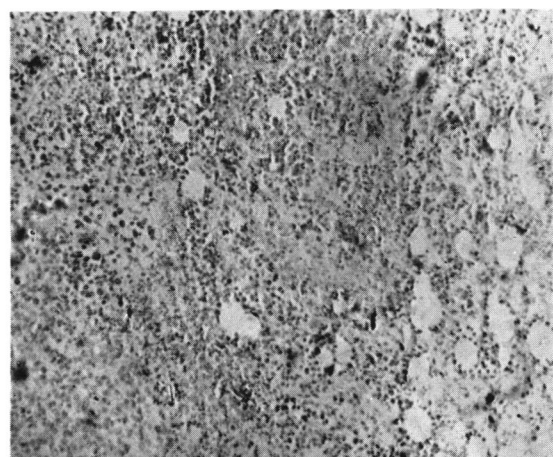
第1図 核酸 (Unna氏染色)
対照群 強拡大



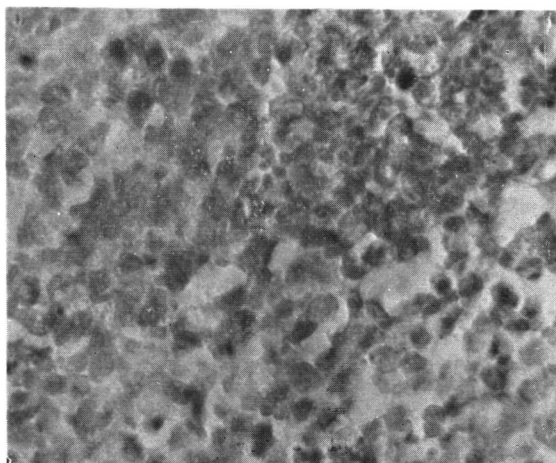
第3図 核酸 (Unna氏染色)
ナイトロミン 単独群 弱拡大



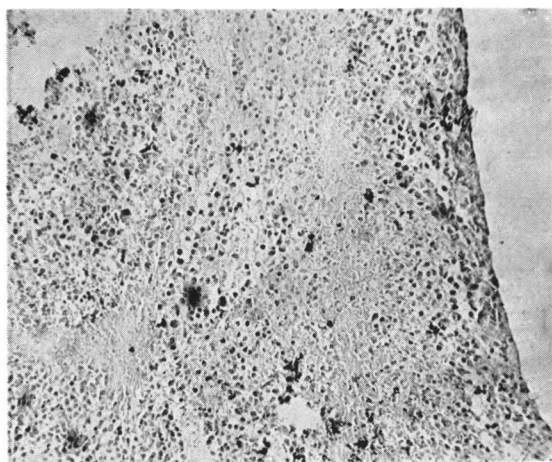
第4図 核酸 (Unna氏染色)
ナイトロミン 単独群 強拡大



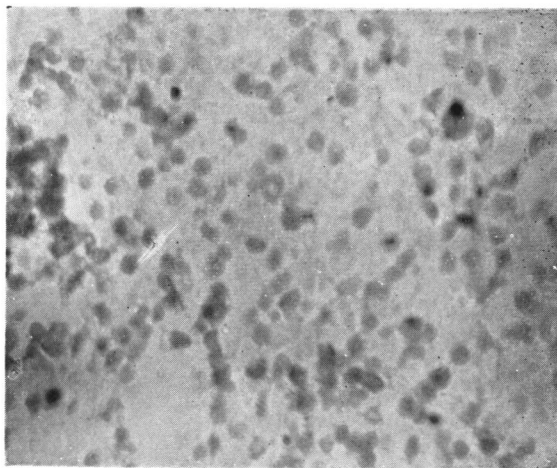
第5図 核酸 (Unna氏染色)
 ^{60}Co 単独照射群 弱拡大



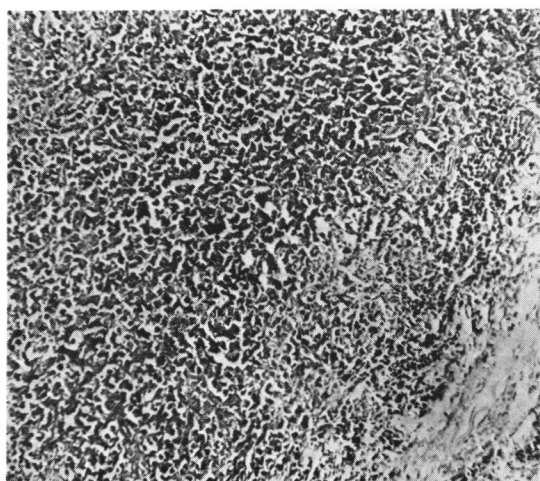
第6図 核酸 (Unna氏染色)
 ^{60}Co 単独照射群 強拡大



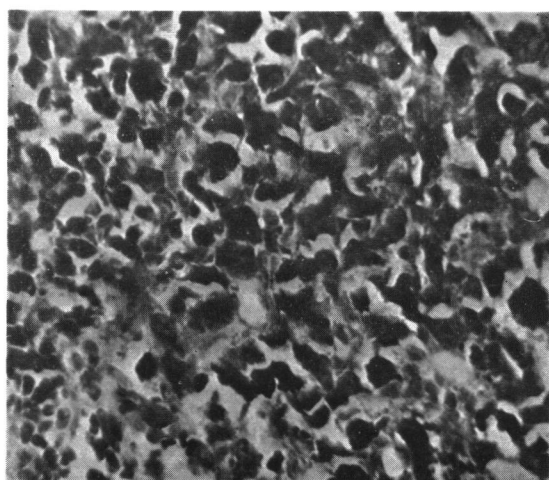
第7図 核酸 (Unna氏染色)
 ナイトロミン・⁶⁰Co照射併用群 弱拡大



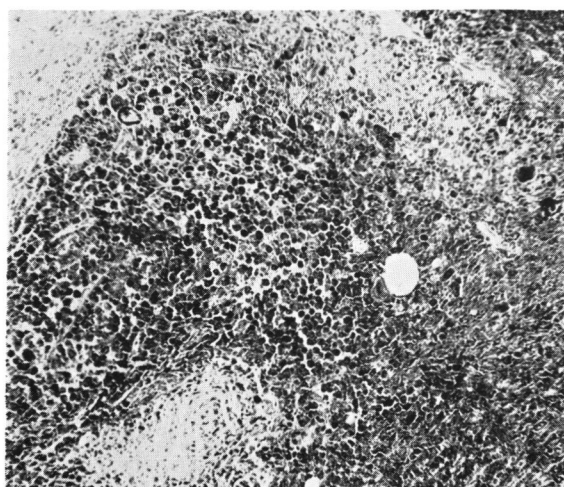
第8図 核酸 (Unna氏染色)
 ナイトロミン・⁶⁰Co照射併用群 強拡大



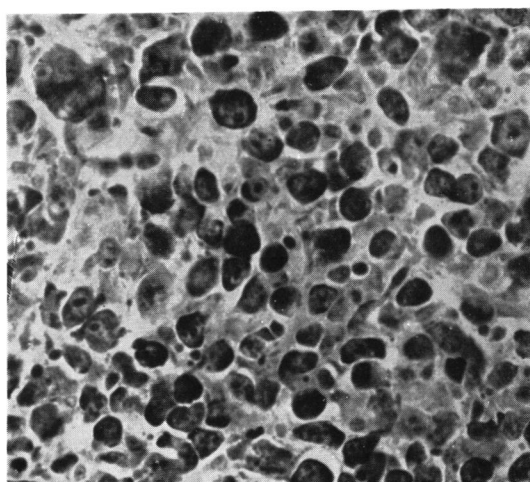
第9図 核酸 (チオニン染色)
 対照群 弱拡大



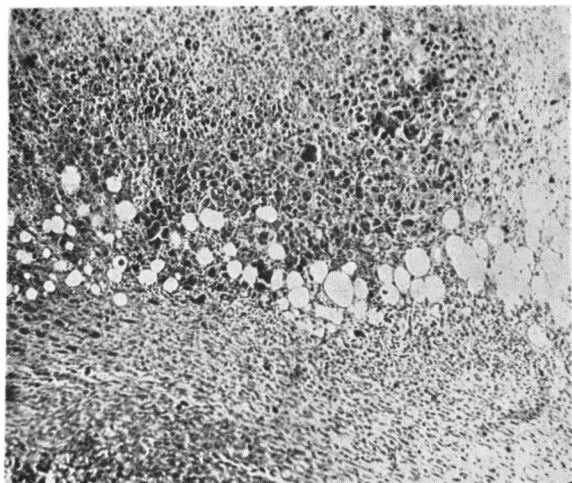
第10図 核酸 (チオニン染色)
 対照群 強拡大



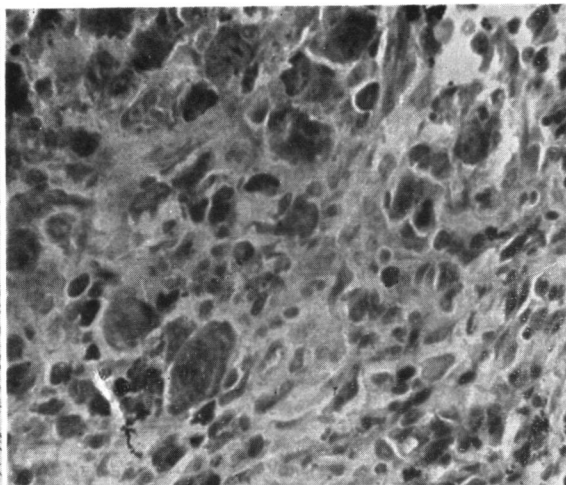
第11図 核酸 (チオニン染色)
 ナイトロミン単独群 弱拡大



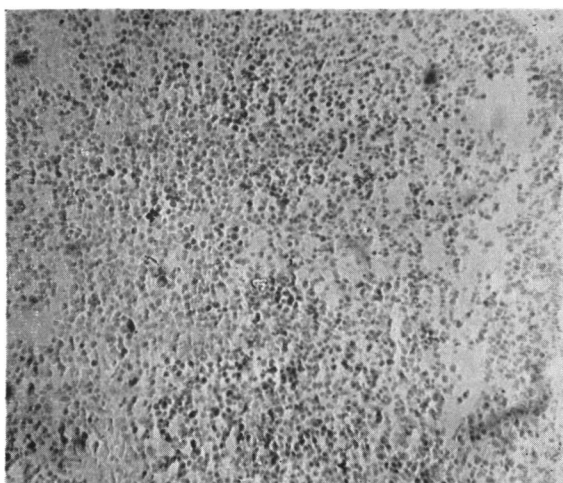
第12図 核酸 (チオニン染色)
 ナイトロミン単独群 強拡大



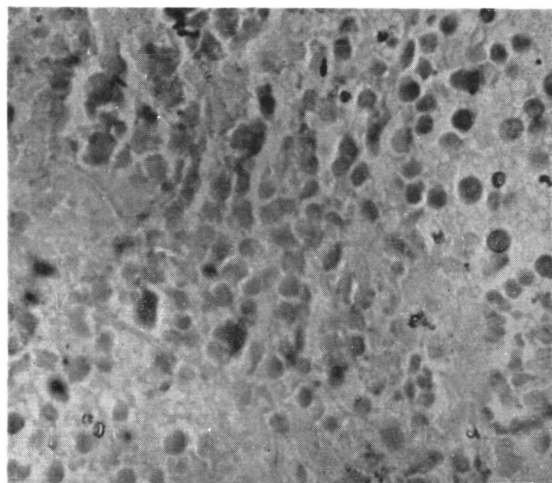
第13図 核酸（チオン染色）
 ^{60}Co 単独照射群 弱拡大



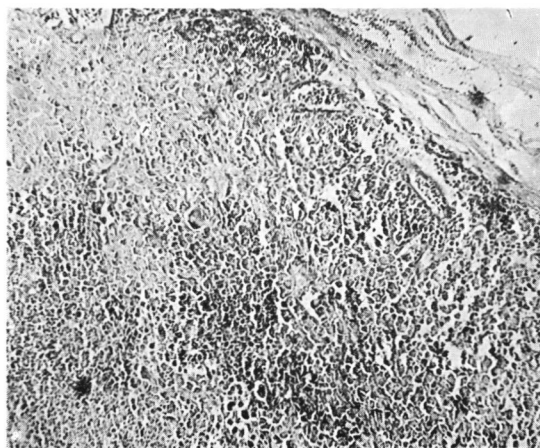
第14図 核酸（チオン染色）
 ^{60}Co 単独照射群 強拡大



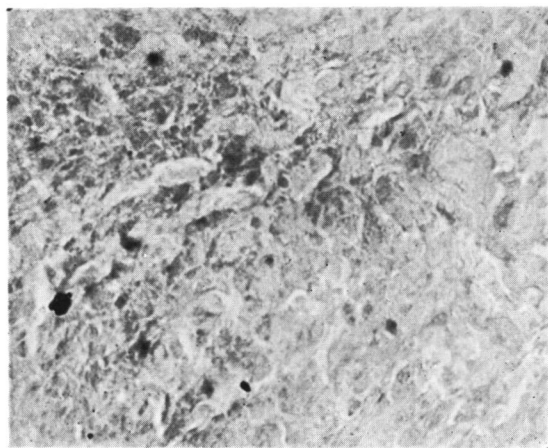
第15図 核酸（チオン染色）
 ナイトロミン・ ^{60}Co 照射併用群 弱拡大



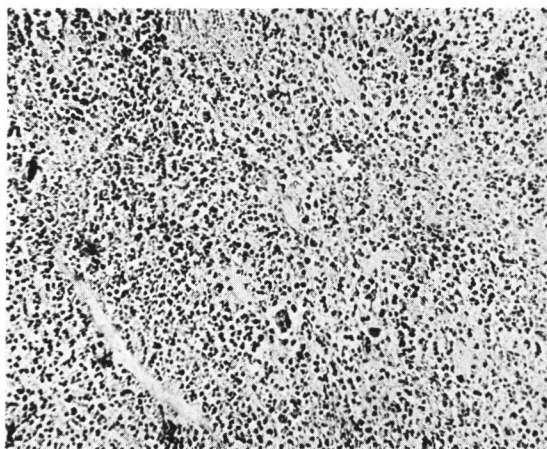
第16図 核酸（チオン染色）
 ナイトロミン・ ^{60}Co 照射併用群 強拡大



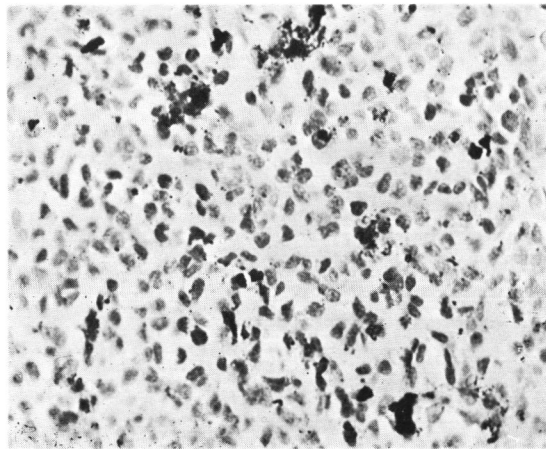
第17図 PAS染色
 対照群 弱拡大



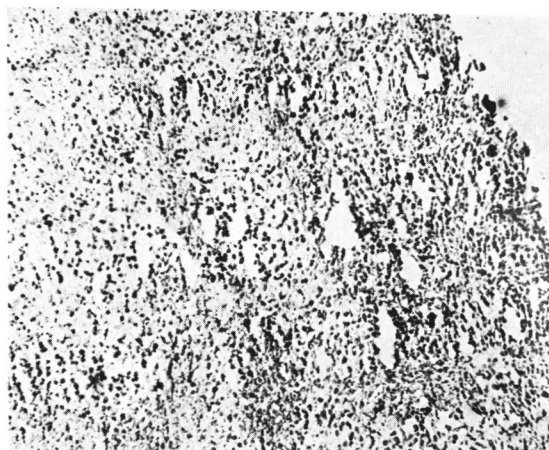
第18図 PAS染色
 対照群 強拡大



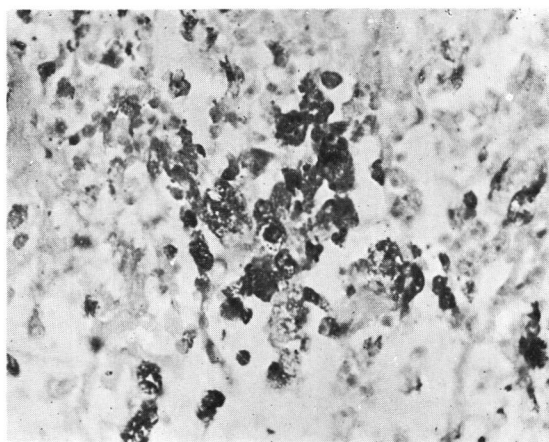
第19図 PAS染色
 ナイトロミン単独群 弱拡大



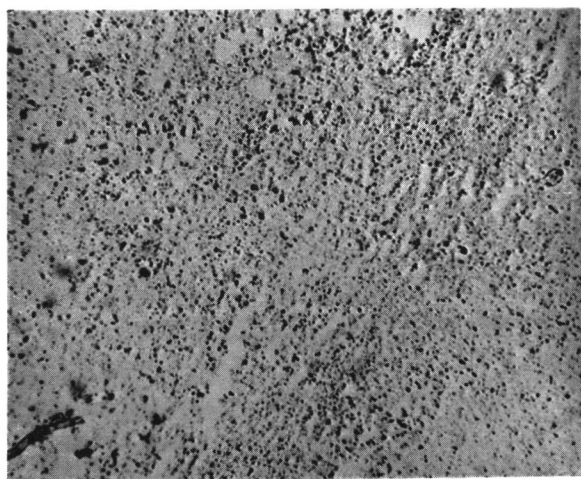
第20図 PAS染色
 ナイトロミン単独群 強拡大



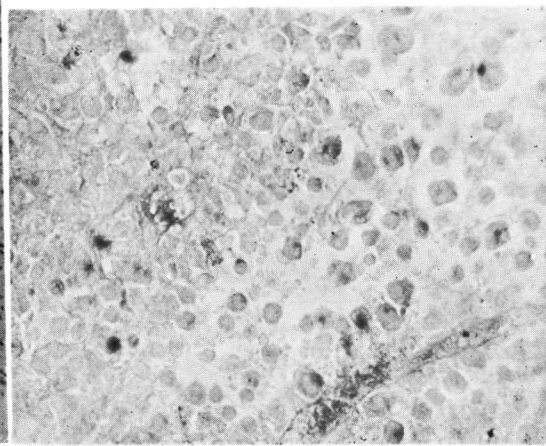
第21図 PAS染色
⁶⁰Co 単独照射群 弱拡大



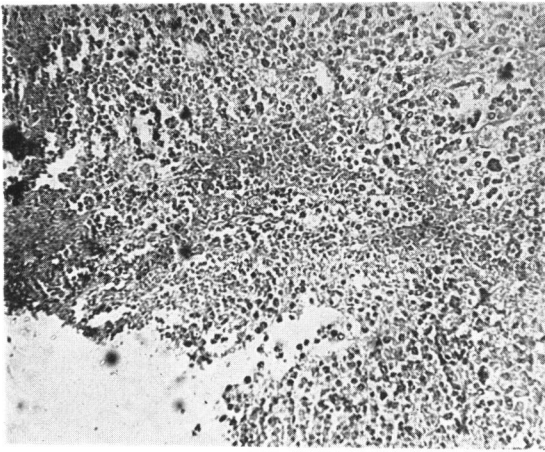
第22図 PAS染色
⁶⁰Co 単独照射群 強拡大



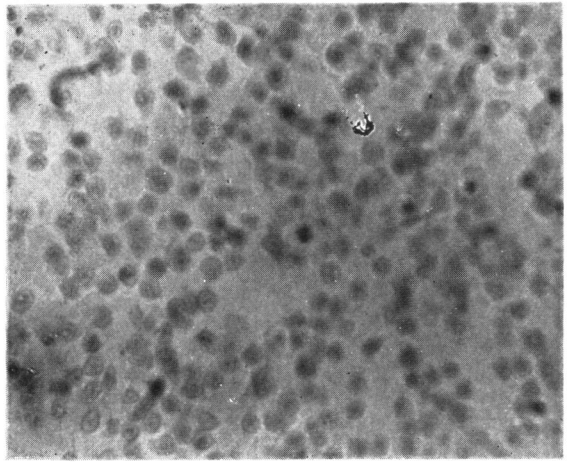
第23図 PAS染色
 ナイトロミン・⁶⁰Co照射併用群 弱拡大



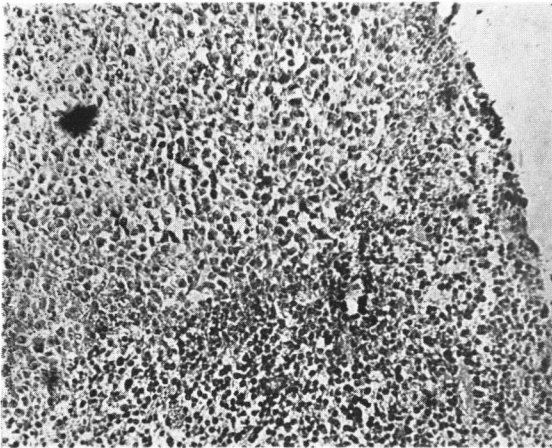
第24図 PAS染色
 ナイトロミン・⁶⁰Co照射併用群 強拡大



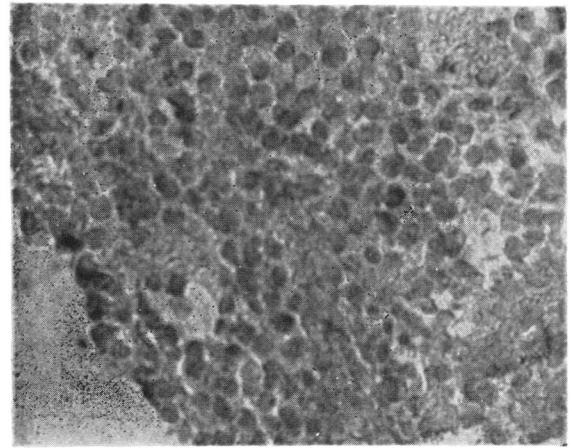
第25図 アルカリホスファターゼ(Gomori氏法)
ナイトロミン単独群 弱拡大



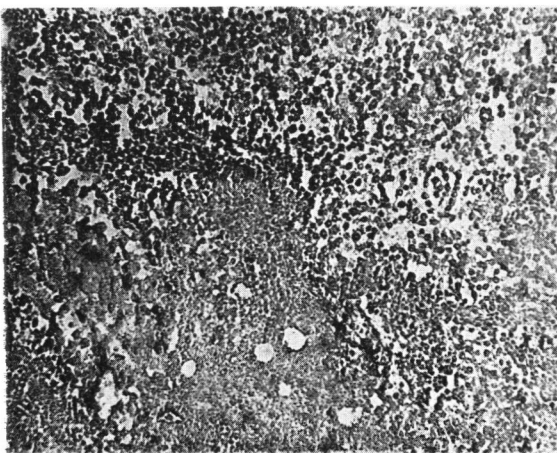
第26図 アルカリ性ホスファターゼ(Gomori氏法)
ナイトロミン単独群 強拡大



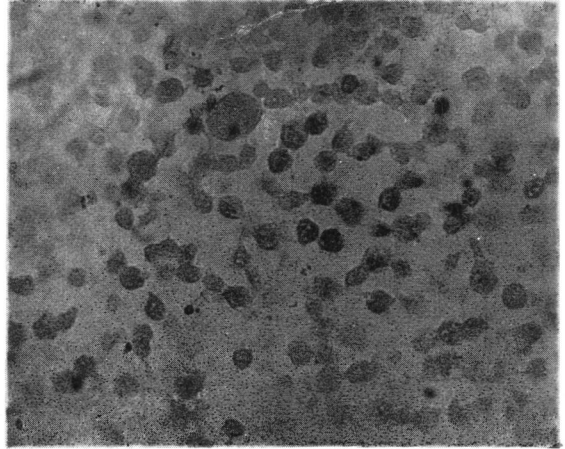
第27図 アルカリ性ホスファターゼ(Gomori氏法)
 ^{60}Co 単独照射群 弱拡大



第28図 アルカリ性ホスファターゼ(Gomori氏法)
 ^{60}Co 単独照射群 強拡大



第29図 アルカリ性ホスファターゼ(Gomori氏法)
ナイトロミン・ ^{60}Co 照射併用群 弱拡大



第30図 アルカリ性ホスファターゼ(Gomori氏法)
ナイトロミン・ ^{60}Co 照射併用群 強拡大