

# 線維芽細胞抑制剤による悪性腫瘍の治療に関する研究

## 第 1 編

フィトナジオンの担腫瘍動物肝カタラーゼ活性に及ぼす影響について

岡山大学医学部平木内科（主任：平木 潔教授）

副手 白 井 孝 一

〔昭和48年10月31日受稿〕

### 内 容 目 次

- 第1章 緒 言
- 第2章 正常マウス肝カタラーゼ活性に及ぼすフィトナジオンの影響について
  - 第1節 実験方法
    - 1) 肝カタラーゼ活性測定法
    - 2) フィトナジオン添加実験
    - 3) フィトナジオン投与実験
  - 第2節 実験成績
  - 第3節 小 括
- 第3章 Sarcoma-180腹水型腫瘍マウス肝カタラーゼ活性に及ぼすフィトナジオンの影響について
  - 第1節 実験方法
  - 第2節 実験成績
  - 第3節 小 括
- 第4章 Sarcoma-180皮下固型腫瘍マウス肝カタラーゼ活性に及ぼすフィトナジオンの影響について
  - 第1節 実験方法
  - 第2節 実験成績
  - 第3節 小 括
- 第5章 Ehrlich皮下固型腫瘍マウス肝カタラーゼ活性に及ぼすフィトナジオンの影響について
  - 第1節 実験方法
  - 第2節 実験成績
  - 第3節 小 括
- 第6章 Sarcoma-180皮下固型腫瘍マウス肝カタラーゼ活性に及ぼす燐酸クロロキンとフィトナジオンの併用効果について
  - 第1節 実験方法
  - 第2節 実験成績
  - 第3節 小 括
- 第7章 Sarcoma-180皮下固型腫瘍マウス肝カタラーゼ活性に及ぼすマイトマイシン-Cとフィトナジオンの併用効果について
  - 第1節 実験方法
  - 第2節 実験成績
  - 第3節 小 括
- 第8章 総括並びに考按
- 第9章 結 論

我々はこれまでに悪性腫瘍の治療に線維芽細胞抑制剤としてクロロキン及びフィトナジオンを使用しており、クロロキンの基礎実験については既に種々報告してきた。今回はフィトナジオンに関する基礎実験を行い、又フィトナジオンとクロロキン及びマイトマイシン-Cの併用についても検討したので第1編においてこれ等の成績を報告し、第2編においては更にクロロキンの悪性リンパ腫に対する治療効果について述べることにする。

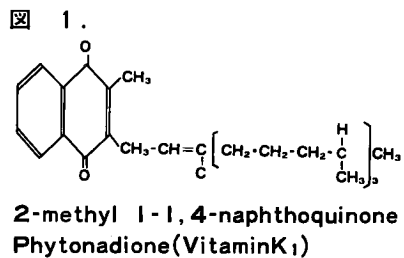
## 第1章 緒 言

悪性腫瘍は実質細胞及び固有間質細胞から成立し、これ等は互に密接な関連のもとに増殖し、又転移により腫瘍を形成する。癌細胞は間質結合織或は血管により栄養され、且つ支持されているものであって、かかる間質の重要性については吉田<sup>1)</sup>もその著吉田肉腫において論及している所であり、この結合織成分である線維芽細胞が悪性腫瘍の増殖と密接な関連にあることは従来多くの人々により研究され且つ認められることである。平木等<sup>2)</sup>はこの悪性腫瘍と線維芽細胞の密接な関係において、線維芽細胞抑制作用を有するクロロキン Chloroquine を用いて二次的に悪性腫瘍の増殖を阻止あるいは遅延させ得ると報告している。

著者はクロロキンと類似の構造をもつフィトナジオン phytonadione (ビタミンK<sub>1</sub>: 2-methyl 1-1, 4-Naphthoquinone) にも同様の腫瘍発育抑制作用があるのではないかと考え、担腫瘍動物の肝カタラーゼ活性値の変動を指標としてその腫瘍発育抑制作用を検討した。

カタラーゼは過酸化水素を分解して分子状態の酸素を発生させる反応を触媒する酵素であるが、医学の面でカタラーゼに興味をもたれた第1の問題は悪性腫瘍との関係においてである。癌発生に併って肝カタラーゼ活性値が低下することを最初に報告したのは Brahn<sup>3)</sup>である。Greenstein<sup>4)</sup>は肝カタラーゼは動物の種類を問わず腫瘍の増大によりその活性は低下するが、逆に腫瘍の完全剔出か自然治癒により再び正常化することを認めた。Euler 及び Heller<sup>5)</sup>によると正常肝細胞内のカタラーゼはミトコンドリアとマイクロソーム分劑中に分布しているが、担腫瘍動物においてはマイクロソーム分劑中のカタラーゼにおいてその活性がまず低下し、ミトコンドリア分劑中のカタラーゼはかなり末期になるまで変化を来さないと報告している。

著者は上述のごとき担腫瘍生体においてその肝カタラーゼ活性が腫瘍の増大によって低下し、治癒ないしは剔出により正常に復帰するという報告に注目しフィトナジオンの抗腫瘍効果を肝カタラーゼ活性低下の抑制の程度により判定する目的で、以下に示すごとく担腫瘍動物の肝カタラーゼ活性に及ぼす本剤の影響を観察し、さらにフィトナジオンと磷酸クロロキンの併用及びフィトナジオンと制癌性抗生物質であるマイトマイシン-Cの併用時における効果を検索した。(図1)



## 第2章 正常マウス肝カタラーゼ活性に及ぼすフィトナジオンの影響について

フィトナジオンが正常肝カタラーゼ活性値に対しいかなる影響を及ぼすかということは酵素学的見地より重要なことである。そこで先ず正常マウス肝カタラーゼ活性値を測定し、in vitro に於て本剤を正常肝細胞ホモジネートに作用させ一定時間後の肝カタラーゼ活性の変動について観察し、次いで in vivo において本剤を正常マウスに投与した場合の肝カタラーゼ活性の変動をしらべ、本剤の肝カタラーゼ活性値に対する直接的影響を検討した。

### 第1節 実験方法

#### 1) 肝カタラーゼ活性値測定法

肝カタラーゼ活性値の測定法は Euler, Josephson,<sup>6)</sup> Bonnicksen<sup>7)</sup> 等の方法に準拠して次の如く実施した。即ち測定前24時間は絶食せしめ、断頭失血致死後直ちに肝を取出し、血液を十分に除去しその250mgを秤量し、可及的0℃(0°~5℃)のもとで0.01M磷酸緩衝液で20倍容としてテフロン製ホモジナイザーにてホモジナイズし、冷凍遠沈器により0℃で3000回転10分間冷凍遠沈し、その上清をとり1000倍希釈液を作る。カタラーゼ緩衝液(磷酸緩衝液にH<sub>2</sub>O<sub>2</sub>を終濃度0.01Nになる様に加えたもの)を予め30cc入りビーカーに5cc宛とり、これを恒温槽中で

37℃に加温しておき、ピペットを用いてビーカー内に稀釈液 1 cc を瞬間的に吹き込む。15秒の反応時間の後 2 N 硫酸溶液 5 cc を加え反応を停止させる。残り 3 個のビーカーにも上記稀釈酵素液を加え各々 30 秒、45 秒、60 秒間反応させ、硫酸を加えて反応を停止させる。最初の過酸化水素濃度を知る為に 5 本目のビーカーには稀釈液を加える前に予め硫酸を入れておく。各ビーカー内の過酸化水素濃度は 0.005 N 過マンガン酸カリ溶液を用い、滴定法によって測定した。滴定は過マンガン酸カリの淡赤色がビーカー内で 20 秒以上持続する時をもって終了とした。カタラーゼ活性の尺度として使用できる反応速度定数 K cat は下式によってもとめられる。

$$K\ cat = \frac{1}{t} \log_{10} \frac{a}{a-x} \quad (\text{sec}^{-1})$$

この式では a は消費した過マンガン酸カリの cc 単位で表わした最初の H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 濃度で、a-x は t 時間に対する滴定値である。4 つの測定値の平均値を 1000 倍したものを肝カタラーゼ活性を表わすものとして使用した。

2) フィトナジオン添加実験

実験動物としては ICR 系雄性マウス (体重 20 g 前後) を実験に供した。即ちその新鮮肝については 250 mg 宛秤量したものを 4 群作り、それぞれホモチナイズする。1 群には蒸留水を添加し対照群とする。他の 3 群には本剤の人体常用量から換算し体重当りの量をもとめ添加濃度を決め、更により高濃度の 2 種を決定し、それぞれ 0.1mg%, 1.0mg%, 10mg% の濃度となる様にフィトナジオンを加え 0℃にて 1 時間 incubate し実験群となし、以上 4 群について、その肝カタラーゼ活性値を前述の方法により測定し、in vitro における本剤の影響を測定した。

3) フィトナジオン投与実験

実験動物としては ICR 系雄性マウス (体重 20 g 前後) を実験に供した。実験群にはフィトナジオン 50mg/kg (1%液 0.1cc) を 1 日 1 回腹腔内に投与し、対照群には生食水 0.1cc を同様に投与しながら 1 週間目、2 週間目、3 週間目のそれぞれについて肝カタラーゼ活性値を測定した。測定法は前述の方法に従った。

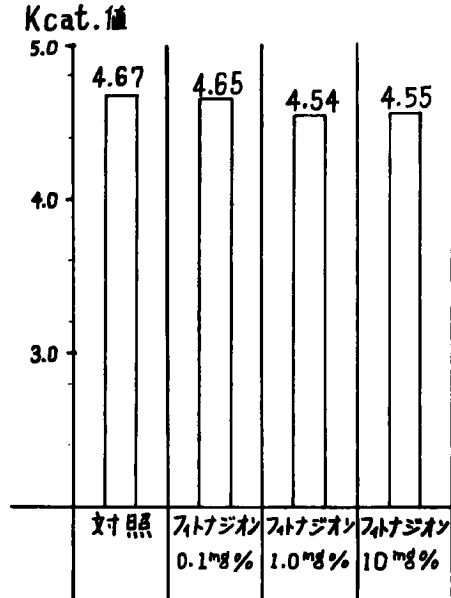
第 2 節 実験成績

1) フィトナジオン添加実験

in vitro において直接フィトナジオンで incubate された正常マウスの肝カタラーゼ活性を現わす K cat は対照が 4.67 であるのに対し、0.1mg% のフィトナジ

オン濃度のもものでは 4.65, 1.0mg% のものでは 4.54, 10mg% のものでは 4.55 とほとんど差異は見られなかった。すなわち本剤は肝カタラーゼ活性値に直接影響をあたえるものでないことが判明した。(図 2)

図 2.



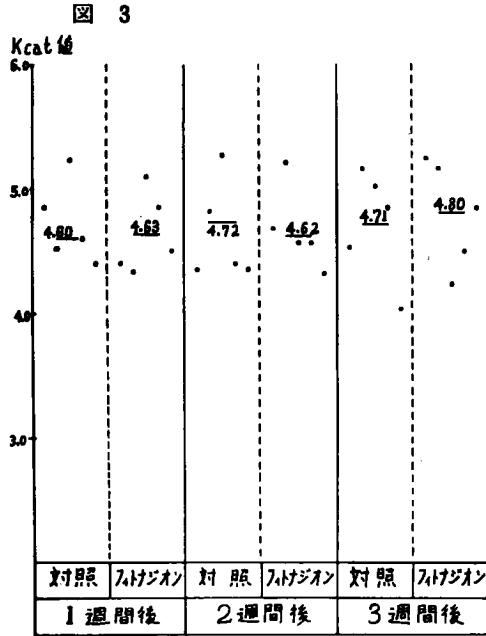
2) フィトナジオン投与実験

正常マウス (ICR 雄性マウス) にフィトナジオン 50mg/kg を連日投与した場合の肝カタラーゼ活性の K cat 値の消長を見ると、1 週間投与群では 4.32~5.10 (平均 4.63) で対照群の 4.40~5.23 (平均 4.60) とほとんど差異なく、次に 2 週間投与群では対照群が 4.35~5.27 (平均 4.72) であるのに対し投与群で

表 1

	1 週間後		2 週間後		3 週間後	
	対照	フィトナジオン	対照	フィトナジオン	対照	フィトナジオン
1	4.85	4.40	4.35	4.68	4.53	5.24
2	4.52	4.32	4.82	5.01	5.18	5.17
3	5.23	5.10	5.27	4.57	5.02	4.23
4	4.60	4.85	4.60	4.56	4.85	4.50
5	4.40	4.50	4.55	4.32	4.03	4.84
平均	4.60	4.63	4.72	4.62	4.71	4.80
	100%	100%	100%	98%	100%	102%

は4.32~5.01 (平均4.62) で、3週間投与群では対照群が4.03~5.24 (平均4.71) であるのに対し、投与群では4.23~5.24 (平均4.80) で何れも有意の変動は認められなかった。(表1, 図3)



第3節 小 括

肝組織ホモチネートに直接フィットナジオンを 0.1 mg%, 1.0mg%, 10mg% の濃度になる様に添加し、0℃にて1時間 incubate しておいても肝カタラーゼ活性には何等の影響をも及ぼさないことが判明した。又正常マウスに本剤50mg/kgを連日投与し、2週間並びに3週間後に肝カタラーゼ活性値を測定してみたが、対照群に比し活性値に有意の変動は見られなかった。

以上のごとくフィットナジオンは日常の臨床で用いる以上の量で後述の実験に用いる範囲内の投与量では正常マウスの肝カタラーゼ活性値には影響を及ぼさないことが判明した。

第3章 Sarcoma-180腹水型腫瘍マウス肝カタラーゼ活性に及ぼすフィットナジオンの影響について

フィットナジオンの抗腫瘍性を検索する目的で、Sarcoma-180腹水腫瘍マウスに本剤を投与し、担腫

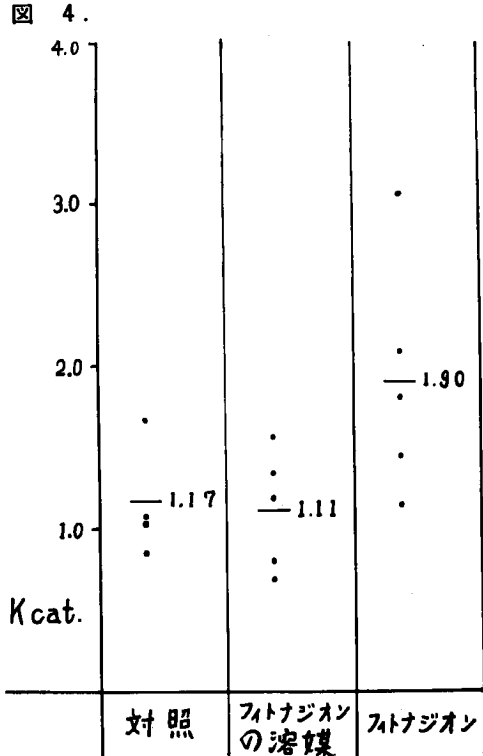
瘍マウスの肝カタラーゼ活性低下が本剤によりどの程度抑制されるかについて検討した。

第1節 実験方法

実験動物には Strong-A系雄性マウス (体重20 g 前後) を用いた。移植法は移植後1週間目の Sarcoma-180腫瘍細胞を均等に含む腹水0.1ccを腹腔内に接種する方法によった。投与方法は実験群に移植後24時間目よりフィットナジオン50mg/kgを毎日1回腹腔内に投与し、又対照群には同様に生食水を 0.1cc 宛投与し、投与開始後1週間目に致死せしめ、それぞれその新鮮肝について肝カタラーゼ活性値を測定した。さらにフィットナジオンの溶媒による肝カタラーゼ活性の変化を知る目的で、他の移植群には溶媒のみを毎日 0.1cc宛腹腔内に投与し同様に処置してその肝カタラーゼ活性値を測定し比較検討した。

第2節 実験成績

肝カタラーゼ活性 K cat. 値を見ると対照群では 0.85~1.67 (平均1.17) であり、溶媒のみを1週間投与した群では0.69~1.56 (平均1.11) であり、その差は平均値において溶媒投与群が5%の低値を示



しているが、これはほとんど有為の差ではないと考えられる。次に、フィトナジオンを投与した群では1.14~3.05 (平均1.90) であり、溶媒投与群に比し171%と著しい高値を示している。(表2, 図4)

表2

	対 照	フィトナジ オンの溶媒	フィトナジ オン
肝 カ タ ラ ー ゼ 活 性	1.67	1.56	3.05
	1.08	1.34	2.08
	1.07	1.19	1.80
	0.85	0.80	1.44
	0.69	1.14	
K cat.	平均 1.17	平均 1.11	平均 1.90

第3節 小 括

Sarcoma-180腹水型腫瘍 Strong-Aマウスにフィトナジオン 50mg/kg を連日投与し肝カタラーゼ活性の低下抑制を検索した所、生食水投与群に対し本剤の溶媒を投与した群では平均5%の活性値の低下が見られたがこれは固体差による変動の範囲内にあるものと考えられ、溶媒による活性値の変動とは考えられない。故に本剤の溶媒は肝カタラーゼ活性値にはほとんど影響を及ぼしていないと考えられる。これに対しフィトナジオン投与群では平均値において溶媒投与群より71%と著しい高値を示しており、本剤により肝カタラーゼ活性値の著るしい改善が得られたことが判明した。

第4章 Sarcoma-180皮下固型腫瘍マウス肝カタラーゼ活性に及ぼすフィトナジオンの影響について

前章において著者は Sarcoma-180 腹水型腫瘍マウスの肝カタラーゼ活性に対し、フィトナジオンは低下抑制的に作用することを示したが、本章においては血液循環形態の全く異なる固形腫瘍をもつ生体の肝カタラーゼ活性に対する本剤の態度を検索した。

第1節 実験方法

実験動物には移植後7日目の Sarcoma-180 腹水型腫瘍細胞を均等に含む腹水を 0.1cc宛背部皮下に移植したICR雄性マウス(体重20g前後)を供した。実験群にはフィトナジオン 50mg/kgを移植後24時間目より連日腹腔内に投与し、対照群には移植後フィトナジオンの溶媒のみを 0.1cc宛同様に投与し、両者共投与開始後2週間目に致死せしめ、その新鮮肝につき肝カタラーゼ活性を測定した。肝カタラーゼ

活性測定法は前述のごとく Euler-Josephson<sup>6)</sup>の方法に準拠した。又マウスを致死せしめた直後に腫瘍を周囲の組織より剔出し、その重量を比較検討した。

第2節 実験成績

肝カタラーゼ K cat 値を見ると、本剤の溶媒投与群では2.14~2.71(平均2.35)であったのに対し、フィトナジオン投与群では2.07~3.48 (平均2.70)であった。すなわちフィトナジオン投与群においては対照としての溶媒群に比し平均値において14.9%の肝カタラーゼ活性の抑制低下が認められた。又腫瘍重量にお

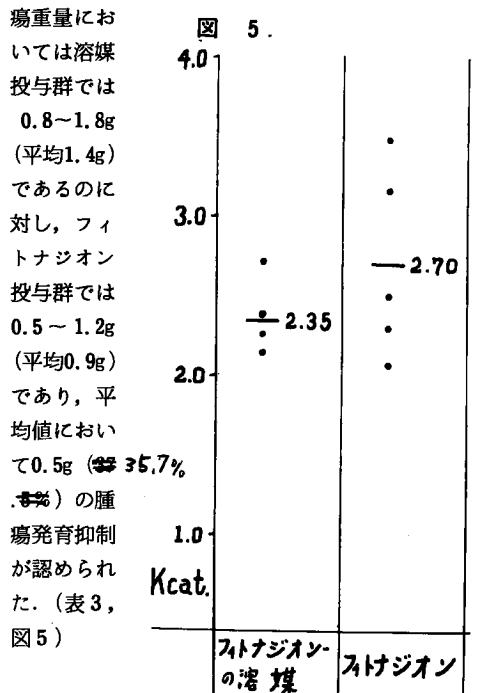


表3

	K. cat.	重 量
フ イ ト ナ ジ オ ン 溶 媒	2.71	1.8g
	2.39	1.5g
	2.26	1.3g
	2.14	0.8g
	平均 2.35	平均 1.4g
	100%	100%
フ イ ト ナ ジ オ ン	3.48	1.2g
	3.16	1.0g
	2.50	1.0g
	2.30	0.6g
	2.07	0.5g
	2.70 平均	平均 0.9g
	114.9%	62.9%
		64.3%

第3節 小 括

Sarcoma-180皮下固型腫瘍に対してもフィトナジオンは腹水型腫瘍に対すると同様に腫瘍の発育を抑制し、肝カタラーゼ活性 K cat. 値においても活性低下抑制が認められた。又腫瘍重量についても溶媒投与群に比しフィトナジオン投与群では低値を示し、腫瘍自体の発育抑制作用のあることが判明した。

第5章 Ehrlich 皮下固型癌マウス肝カタラーゼ活性に及ぼすフィトナジオンの影響について

フィトナジオンは発育速度が比較的遅い Sarcoma-180に対しては腫瘍発育に抑制的に作用することが前章の実験で判明したが、今回は Sarcoma-180 よりも発育速度の速い Ehrlich癌についてフィトナジオンの腫瘍発育に対する抑制効果を検討した。Ehrlich皮下固型癌は発育が速く、移植後10日目頃より潰瘍形成が著るしい為、中心部壊死形成もなく肉眼的に比較的良好な腫瘍の状態が維持できている1週間目において腫瘍発育抑制効果を検討した。

第1節 実験方法

実験動物には Strong-A系 雄性マウス（平均体重 20 g前後）を用いた。移植法は移植後1週間目の Ehrlich腹水癌細胞を均等に含む腹水を0.1cc宛マウスの背部皮下に移植する方法によった。この様にして皮下に移植された15匹のマウスを3群に分け、実験群には移植後24時間目よりフィトナジオン50mg/kgを毎日腹腔内に投与し、又対照群は2群とし、1群には生食水 0.1ccを毎日腹腔内に投与し、他の群にはフィトナジオンの溶媒 0.1ccを毎日腹腔内に投与し、いずれも投与開始後1週間の後に断頭致死せし

め肝内の血液を可及的にとりのぞいた後、その新鮮肝について肝カタラーゼ活性を測定した。肝カタラーゼ活性測定法は前述の Euler-Josephson<sup>4)</sup>の方法に従った。又致死時において腫瘍の平均直径を計測し、同時に比較検討した。

第2節 実験成績

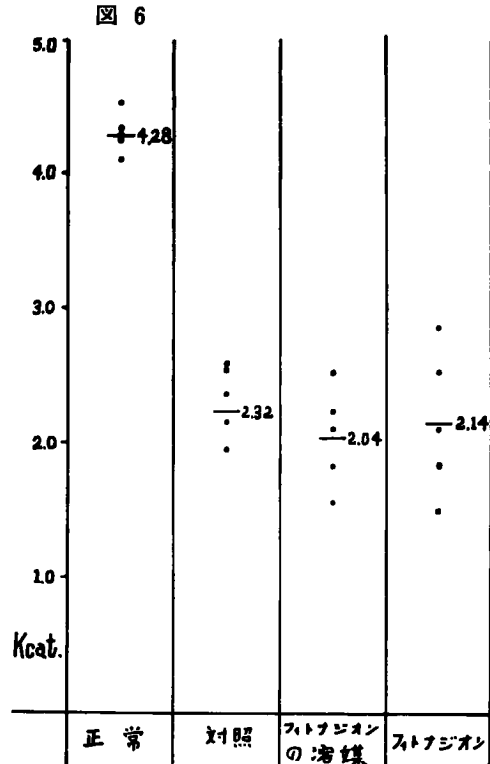


表 4

	正 常	対 照	フィトナジオンの溶媒	フィトナジオン
肝カタラーゼ活性 (K cat.)	4.52	2.58	2.51	2.85
	4.31	2.56	2.23	2.52
	4.29	2.37	2.10	2.10
	4.25	2.15	1.82	1.83
	4.10	1.95	1.56	1.50
	平均 4.28	平均 2.32	平均 2.04	平均 2.14
腫瘍平均	10.2 } 11.7 } 平均 11.0		10.2 } 11.7 } 平均 12.5	
直径 (mm)	12.7 } 100%		12.0 } 平均 12.4	
	15.0 }		11.0 }	
	15.5 }		12.5 }	
	15.5 }		18.5 }	

先ず無処置の正常マウスにおいては肝カタラーゼ活性 K cat. 値は4.10~4.52 (平均4.28) であり、次に Ehrlich 皮下固型癌マウスに生食水を投与した群においては1.95~2.58 (平均2.32) で、溶媒投与群については1.56~2.51 (平均2.04) であった。これに対しフィットナジオン投与群においては1.50~2.85 (平均2.14) となった。即ち対照群では生食水投与群において45.8%, 溶媒投与群において51.8%の肝カタラーゼ活性低下率が示されたが、フィットナジオン投与群においても50%の低下が見られ、フィットナジオンによる肝カタラーゼ活性低下抑制効果は見出されなかった。又致死時における腫瘍平均直径においても生食水投与群では10.2~15.5mm (平均11.0mm) 溶媒投与群では10.2~17.5mm (平均12.5mm), フィトナジオン投与群では9.2~~~18.5~~mm (平均12.4mm) であり有意の差は認められなかった。(表4, 図6)

第3節 小 括

Ehrlich皮下固型癌マウスにフィットナジオン50mg/kgを腹腔内に投与し、投与開始後1週間目に肝カタラーゼ活性 K cat. 値及び腫瘍平均直径について対照群と比較検討したが、いずれにおいても有意の差を見出すことはできなかった。これは腫瘍の発育速度が単に速いことのみならず、腫瘍が早期より壊死崩壊に陥り長期間の薬剤投与及び観察が不可能である為、1週間という短期間で比較検討した事も関与していると思われる。

第6章 Sarcoma-180皮下固型腫瘍マウス肝カタラーゼ活性に及ぼす磷酸クロロキンとフィットナジオンとの併用効果について

平木等<sup>1)</sup>によるとフィットナジオンと同様に線維芽細胞抑制作用が磷酸クロロキンにも見出され、かつ小谷<sup>2)</sup>によると担癌動物の肝カタラーゼ活性低下抑制作用を有しているといわれる。著者は同様に線維芽細胞抑制作用を有するフィットナジオンと磷酸クロロキンを併用し、磷酸クロロキン単独投与時との腫瘍発育抑制効果の比較検討を行った。

第1節 実験方法

実験動物にはICR系雄性マウス(体重20g前後)を供した。移植法は移植後1週間目のSarcoma-180腹水腫瘍細胞を均等に含む腹水0.1ccをマウスの背部皮下に移植した。移植後24時間目より1群には磷酸クロロキン25mg/kgを、併用群にはフィットナジオン50mg/kg及び磷酸クロロキン25mg/kgを同時に、いずれも毎日1回腹腔内に投与した。対照群には移植後

24時間目より生食水0.1ccを同様に腹腔内に投与しながら、いずれも投与開始後2週間目に致死せしめ、その新鮮肝について肝カタラーゼ活性を測定した。又同時に致死せしめた際腫瘍を剔出しその重量を測定し比較検討の一助とした。

第2節 実験成績

肝カタラーゼ活性 K cat. 値をみると対照群では0.84~2.23 (平均1.55) であり、磷酸クロロキン単独投与群では~~1.37~~~2.75 (平均2.13) であり、対照群に比し37.5%の高値を示した。これに対しフィットナジオンと磷酸クロロキン併用群では1.60~3.20 (平均2.33) であり対照群に対しては50.3%と著明な差が見られ、磷酸クロロキン単独投与群に対しては9.4%の改善であり、著明ではないが改善の傾向がうかがわれた。同時に計測された腫瘍重量においては対照群では平均2.4gであるのに対し、磷酸クロロキン単独投与群では平均1.6g (66.7%) であり、併用群では1.3g (54.2%) となり、磷酸クロロキン単独投与群に対し併用群は18.8%の縮少を見た。

(表5, 図7)

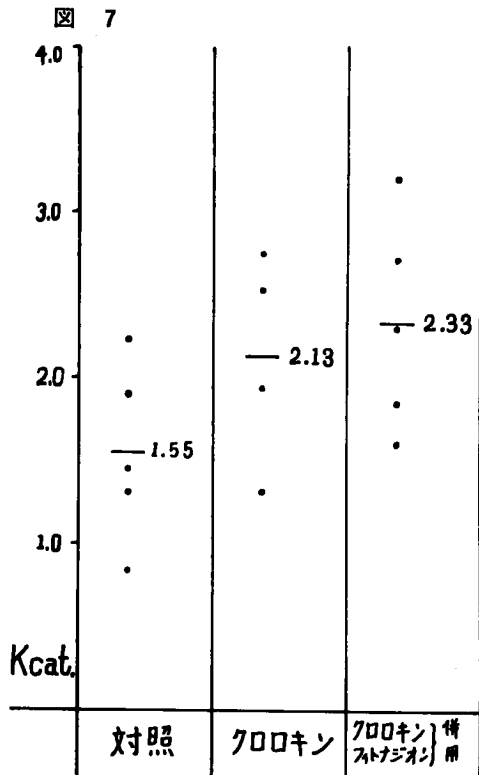


表5

	対 照	クロロキン	クロロキン フィットナジオン } 併用
肝カタラーゼ活性 (K cat)	2.23	2.75	3.20
	1.90	2.53	2.71
	1.45	1.94	2.30
	1.31	1.31	1.85
	0.84		1.60
	平均 1.55	平均 2.13	平均 2.33
腫瘍重量 (g)	4.4	2.1	1.8
	2.2	1.9	1.6
	1.9	1.5	1.5
	1.8	1.0	1.4
	1.7		1.1
	平均 2.4 100%	平均 1.6 66.7%	平均 1.3 54.2%

## 第3節 小 括

フィットナジオンと同じく線維芽細胞抑制作用をもつ磷酸クロロキンを併用し腫瘍発育抑制効果を肝カタラーゼ活性 K cat. 値より検索した結果、磷酸クロロキンは Bashford 癌<sup>8)</sup> Brown-Pearce 癌<sup>9)</sup> に対すると同様に Sarcoma-180 に対しても腫瘍発育抑制効果を持ち、フィットナジオンとの併用によりさらに抗腫瘍効果が増大することが判明した。このことは同時に腫瘍重量においても示された。

## 第7章 Sarcoma-180皮下固型腫瘍マウス肝カタラーゼ活性に及ぼすフィットナジオンとマイトマイシン-Cの併用効果について

マイトマイシン-C (以下 MMC と略す) は DNA 合成を阻害する強力な制癌剤であるが、木村等<sup>2)</sup> は Bashford 癌において MMC と磷酸クロロキンの併用を行い、腫瘍発育に対し MMC 単独投与時よりもより強い腫瘍発育抑制効果があると報告している。著者はフィットナジオンと MMC を併用し、腫瘍発育抑制効果について MMC 単独投与時と比較検討した

## 第1節 実験方法

実験には ICR 系 雄性マウスに前述の方法により Sarcoma-180 を皮下に移植したものを供し、1 群 5 匹として 4 群に分けた。第 1 群には生食水 0.1cc を、第 2 群にはフィットナジオンの溶媒のみを 0.1cc 宛投与しそれぞれ対照群とした。第 3 群には MMC 0.25 mg/kg を、又第 4 群にはフィットナジオン 50mg/kg 及び MMC 0.25mg/kg をそれぞれ移植後 24 時間目より毎日 1 回腹腔内に投与し、投与開始後 14 日目に対照群と共に致死せしめ肝カタラーゼ活性を測定した。又同時に腫瘍を剔出しその重量を測定した。

## 第2節 実験成績

Sarcoma-180 移植マウスについて生食水投与群の K cat. 値は 1.93 ~ 3.63 (平均 2.67) であり、溶媒投与群の K cat. 値は 2.12 ~ 3.61 (平均 2.71) で両者の間には有意の差はないが、MMC 単独投与群では 2.15 ~ 3.84 (平均 2.93) と生食水投与群に比し 9.7% の上昇による改善が認められた。さらにフィットナジオンと MMC 併用群は 2.24 ~ 4.73 (平均 3.33) であり、溶媒のみの投与群に比し 23.2%、又 MMC 単独投与群に比し 13.6% の改善を示している。又腫瘍

重量においても生食水投与群と溶媒のみの投与群の間には差はないが、MMC 単独投与群では 23.9% の縮少が見られ、併用群は溶媒のみの投与群に比し 30.8%、又 MMC 単独投与群に比しても 10% の腫瘍縮少が認められた。(表 6, 図 8)

図 8.

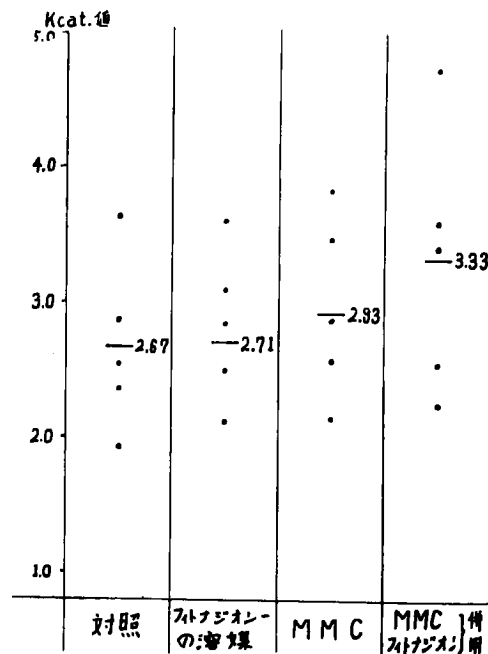




表 6

	対 照	フィットナジオンの溶媒	MMC	MMC フィットナジオン } 併用
肝 カ タ ラ ー ゼ 活 性  (K cat.)	3.63	3.61	3.84	4.73
	2.88	3.10	3.48	3.60
	2.55	2.85	2.88	3.41
	2.36	2.50	2.58	2.55
	1.93	2.12	2.15	2.24
	平均 2.67	平均 2.71	平均 2.93	平均 3.33
腫瘍重量 (g)	1.9	1.8	1.7	1.6
	1.7	1.6	1.4	1.2
	1.3 } 平均 1.3	1.5 } 平均 1.3	0.8 } 平均 1.0	0.7 } 平均 0.9
	1.0 } 100%	1.2 } 100%	0.7 } 76.1%	0.5 } 69.2%
	0.5	0.5	0.6	0.4

第3節 小 括

Sarcoma-180皮下固型腫瘍1CRマウスの肝カタラーゼ活性K cat. 値に及ぼすフィットナジオンとMMC併用効果はMMC単独投与時よりもより大きく、又腫瘍重量からもMMC単独投与時よりもより強い抗腫瘍効果のあることが判明した。

第8章 総括並びに考按

悪性腫瘍と肝カタラーゼ活性の関係は緒言でも述べたごとく、1919年 Brahn<sup>3)</sup>により悪性腫瘍発生により肝カタラーゼ活性が低下することが発見されて以来の事であり、その後 Greenstein<sup>4)</sup>により詳細かつ系統的に研究された。Greenstein は皮下移植肝癌31例の肝カタラーゼ活性は最低正常の1/20になり、腫瘍を手術的に剔出した後は肝カタラーゼ活性は1~2日で正常に帰し、再移植で再び減少することを認めている。しかもその低下は動物の種類には無関係であるという。

さてフィットナジオンは 2-methyl 1-1, 4-Naphthoquinon の構造をもつキノン誘導体であり、一種の止血剤として知られてきたが、1936年 Fekete<sup>10)</sup> がフィットナジオンの慢性炎症における抗炎症作用を報告して以来、抗肉芽腫作用、抗アナフィラキシー作用、抗プラスミン活性増強作用、血管透過性抑制作用、間質結合組織抑制作用等が認められている。<sup>10)~15)</sup> 教室においてもフィットナジオンが in Vitro において鶏胎児心線維芽細胞の増生に抑制的に作用することが明らかにされており、本剤も燐酸クロロキンと同様に悪性腫瘍の間質を障碍し二次的に腫瘍の発育を抑制することが期待されるので、本剤を担腫瘍動物に投与し、その抗腫瘍効果を判定する一つの指標と

して肝カタラーゼ活性に及ぼす影響について検索した。

周知のごとく諸種制癌剤が担腫瘍動物の肝カタラーゼ活性低下を抑制することは多数報告されている。即ち石原<sup>16)</sup>は吉田肉腫、腹水肝癌(ラッテ)に Nitromin, 8-Azaguanin, 6-Mercaptopurine を、石川<sup>17)</sup>は Ehrlich 癌マウスに Sarcomycin, Carcinophyllin, Nitromin を、山元<sup>18)</sup>は吉田肉腫に Nitromin, 8-Azaguanin, 6-Mercaptopurine を、飯島等<sup>19)</sup>は Ehrlich 癌に Hg-Hematoporphyrin を、伊藤等<sup>20)</sup>は Ehrlich 癌に Mitomycin を、黒川等<sup>21)</sup>は Ehrlich 癌に ChromomycinA-3 をそれぞれ適用し、該動物の肝カタラーゼ活性低下を抑制し得ることを述べている。即ちこれ等の物質を投与した担腫瘍動物における肝カタラーゼ活性低下抑制は一つの重要な所見であり、組織学的或は細胞学的に抗腫瘍性を示す物質はすべて肝カタラーゼ活性においても好影響が示されるのである。著者は前述のごとくフィットナジオンが腹水型及び皮下固型 Sarcoma-180 担腫瘍マウスに対して腫瘍発育抑制効果のあることを示したが、腫瘍発育抑制効果の見られなかった Ehrlich 皮下固型腫瘍に対しては肝カタラーゼ活性においても有効性は認められなかった。又フィットナジオンと同様に線維芽細胞抑制作用を有する燐酸クロロキン及び強力な DNA 合成阻害作用による抗腫瘍性を有するMMCとフィットナジオンの併用を試み、それぞれの場合に対してフィットナジオンが効果増強作用を有するかどうかを検索した所、いずれの場合においても期待する抗腫瘍効果の増強が見られた。

次に個々の成績を検討してみることにする。

1) 正常マウス肝カタラーゼ活性に及ぼすフィット

### ナジオンの影響について

正常マウスにフィットナジオンを投与した場合、実験成績の示すごとく肝カタラーゼ活性にはほとんど影響はなかった。又 *in vitro* において直接フィットナジオンを添加した実験でも肝カタラーゼ活性には何等影響を及ぼさなかった。さて正常動物に抗腫瘍性物質を投与した場合、その肝カタラーゼ活性に与える影響を追述した実験が諸家より発表されているが、石川<sup>17)</sup>は正常マウスに Carcinophyllin, Actinomycin-D, Nitromin, Sarcomycin を、石原<sup>18)</sup>は正常ラッテに 8-Azaguanin, Nitromin, 6-Mercaptopurine を投与してその肝カタラーゼ活性の変動を検索している。それによると前者では Carcinophyllin, 後者では Nitromin が肝カタラーゼ活性の著しい低下を示すが、その他の物質は *in vitro* では何等の変化も来さないが、*in vivo* では軽度の低下を示すことを報告している。しかしフィットナジオンは以上の物質とくらべ、腫瘍の発育を抑制する濃度においては *in vitro* においても又 *in vivo* においてもほとんど肝カタラーゼ活性の低下を示さないことが判明している。

### 2) 胆腫瘍動物の肝カタラーゼ活性に及ぼすフィットナジオンの影響について

Sarcoma-180腹水型腫瘍マウスの肝カタラーゼ活性はフィットナジオン投与開始後2週間目には対照群に比し71%の改善が認められ、同様の所見は Sarcoma-180皮下固型腫瘍マウスの肝カタラーゼ活性においても認められ、対照群に比し14.9%の改善が得られた。同時に腫瘍重量においても32.0%の改善が得られた。しかし腫瘍発育速度の速い Ehrlich 皮下固型癌については肝カタラーゼ活性低下抑制及び腫瘍平均直径に好影響は及ぼさなかった。又教室の木村等により報告された線維芽細胞抑制剤クロロキンは Bashford 癌, Brown-Peace 癌に対すると同様に Sarcoma-180 に対しても有効であることが判明したが、さらにフィットナジオンを併用することにより、より有効な抗腫瘍効果の得られることが判明した。一方 MMC との併用においては MMC 単独投与群に比し肝カタラーゼ活性の著明な改善が得られたことは、制癌剤の癌患者への投与方法ということに関して興味ある示唆をあたえるものと考えられる。

さて担腫瘍動物においては程度の差こそあれいづれも肝カタラーゼ活性の低下が見られるが、Begg等<sup>21)</sup>によれば肝カタラーゼ活性低下の程度はそれがより悪性であるか否かにより異なると報告されている。

即ち腫瘍の発育速度が速く生存日数の短いものは肝カタラーゼ活性の低下が著明であるという。故にフィットナジオンが腫瘍発育速度の速い生存日数の短い、従って悪性度の高い Ehrlich 皮下固型癌マウスに対してはその肝カタラーゼ活性低下に何等好影響を及ぼさず、Sarcoma-180の様に比較的発育速度の遅い腫瘍をもつマウスでは肝カタラーゼ活性低下に抑制的に作用し、さらに制癌剤との併用において腫瘍の発育抑制作用をより強力にしたことは本剤による腫瘍発育の抑制及び延命効果と相俟って本剤の抗腫瘍性を考慮する上に注目すべき問題であると考えられる。

## 第9章 給 論

線維芽細胞抑制剤フィットナジオン(ビタミンK<sub>1</sub>)の抗腫瘍性について主として肝カタラーゼ活性の面から検討して以下に示す結果を得た。

- 1) 正常マウスの肝組織ホモジネートに直接フィットナジオンを常用量以上の換算量で添加作用させても、肝カタラーゼ活性値には影響はなかった。
- 2) 正常マウスに連日フィットナジオン50mg/kgを投与しても肝カタラーゼ活性値には大きな変動は及ぼさなかった。
- 3) Sarcoma-180腹水型及び皮下固型腫瘍マウスにフィットナジオン50mg/kgを投与した場合、肝カタラーゼ活性低下抑制効果が認められた。
- 4) Ehrlich 皮下固型癌マウスに1週間フィットナジオン50mg/kgを連日投与しその直後に測定した場合、肝カタラーゼ活性低下抑制効果は認められなかった。
- 5) フィटनाジオンと線維芽細胞抑制剤クロロキンの併用においては、クロロキン単独投与時よりも肝カタラーゼ活性低下抑制効果においてより有効である傾向が示された。
- 6) 制癌剤 MMC との併用においては MMC 単独投与の場合より、肝カタラーゼ活性の上からより強い抗腫瘍効果を見た。

稿を終るに臨み、終始御指導と御校閲を賜った恩師平木潔教授に深甚の謝意を表わすと共に、終始御助言、御教示下さった木村郁郎講師に深謝します。

## 文 献

- 1) 吉田富三：吉田肉腫，9～25，1949
- 2) 平木潔，木村郁郎：線維芽細胞抑制剤による悪性腫瘍の治療に関する研究（第1報）総合臨床，11，1807  
1962.
- 3) B. Brahn: Z. für Krebsforschung, 16, 112, 1919.
- 4) J. P. Greenstein: Biochemistry of Cancer, Academic press, New York and London, 1954.
- 5) H. von Euler, L. Heller: Z. für Krebsforschung, 56, 393, 1949.
- 6) H. von Euler, K. Josephson: Über Katalase, Ann, 452, 158, 1927.
- 7) R. K. Bonnichsen, B. Chance, H. Theorell: Catalase activity, Acta Chem. Scand. 1, 685, 1947.
- 8) 小谷秀成：線維芽細胞抑制剤による悪性腫瘍の治療に関する研究（第2報）岡医会誌，77，961，1965.
- 9) 平木潔，木村郁郎，河西浩一，森俊雄，守谷欣明，永広哲，林信広，山名正俊，大熨泰亮，西崎良知，白井孝一：線維芽細胞抑制剤による悪性腫瘍の治療（1），Chemotherapy, 14, 165, 1965.
- 10) G. Fekete, G. Wix, Domok: Enhancement of the effect of prednisolone by 2-methyl 1-1, 4-naphthoquinone, Nature, 4864, 291, 1963.
- 11) 中尾喜久，井林博：Prednisolone, vitamine K<sub>1</sub> 併用に関する基礎実験，エーザイ文献集（ビタミンK<sub>1</sub>の消炎ステロイドとの相剰効果について）エーザイ，東京，1969.
- 12) 二宮春忠，田島鉄弥：Vitamin K<sub>1</sub> 及び Prednisolone の実験的消炎作用について，エーザイ文献集（ビタミンK<sub>1</sub>の消炎ステロイドとの相剰効果について）エーザイ，東京，1969.
- 13) 佐藤昭士：皮膚科領域におけるビタミンK<sub>1</sub>のCorticoid様作用に関する臨床的ならびに実験的研究，皮膚と泌尿，28, 350, 1966.
- 14) 中村家政：ビタミンK<sub>1</sub>のコレチコイド様作用に関する検討，臨床皮泌，19, 153, 1965.
- 15) I. B. Kovacs, P. Gorog, L. Szporny, G. Fekete: Effect of vitamin K on Connective tissue metabolism, Biochem. pharmac. 16, 575, 1967.
- 16) 石原実：日産婦会誌，8，243，1965.
- 17) 石川隆：広島医誌，12，1389，1959.
- 18) 山元清一，石原実，川島吉良：悪性腫瘍の肝カタラーゼに関する研究（第1報）Gann, 46, 444, 1955.
- 19) 飯島登，松浦潔，藤田吉四郎，相羽達雄，浮島仁也，上白土啓一：化学療法6，(2)，1958.
- 20) 伊藤一二：Mitomycin-Cの抗腫瘍性に関する研究（マイトマイシン文献集）協和醸酵，大阪，
- 21) 黒川利雄，山形敏一，斎藤達雄，西条力男，村田栄治，長谷川正雄，高仲幹雄，大平貞雄，桑野昭彦，雲出正，伊藤正敏，佐々木義徳，平井二郎，亙理健一，瀬戸淳一，若狭治毅，橘芳郎：クロモマイシンとブレドニソロンによる癌の併用療法に関する実験的研究，癌の臨床，6，220，1960.
- 22) Begg, Dickson, Miller: Canadian J. of Med. Science, 31, 315, 1953.

## Study on the Treatment of Malignant Tumors with Fibroblast-Inhibiting Agent

### Part 1. Effect of Phytonadione on Liver Catalase Activity of Animals Bearing Malignant Tumors.

By Kouichi SHIRAI

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School

(Director: Prof. Kiyoshi HIRAKI)

Followings are the results derived from the treatment of malignant tumors of animals with the fibroblast-inhibiting agent such as phytonadione based on the unique idea of ours.

1) No effect was observed on the catalase activity of liver tissue homogenate of normal healthy mice by the direct addition of excessive doses of phytonadione.

2) No change was observed in the liver catalase activity of normal mice administered 50mg/kg of phytonadione.

3) Inhibition of decreasing liver catalase activity was observed at two weeks after administration of phytonadione in mice bearing sarcoma-180 ascites and subcutaneous tumors.

4) No inhibition of decreasing liver catalase activity was observed at one week after administration of 50mg/kg of phytonadione in mice bearing Ehrlich subcutaneous cancer.

5) With the combination use of phytonadione and one of the fibroblast-inhibiting agents, chloroquine, a more remarkable inhibiting effect of decreasing liver catalase activity was observed than with a single administration of chloroquine in mice bearing sarcoma-180 ascites tumor.

6) Remarkable carcinostatic effect was observed with the combination use of mitomycin-C and phytonadione than with the single administration of mitomycin-C.