

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

クロロキンと所謂制癌剤の併用療法に関する基礎的研究

岡山大学医学部平木内科 (主任: 平木潔教授)

副 手 森 俊 雄

〔昭和45年12月12日受稿〕

内 容 目 次

第1章 緒 言

第2章 実験材料並びに実験方法

第3章 実験成績

第1節 腫瘍の発育に及ぼす影響

第2節 平均体重増加度

第3節 組織像

第4章 総括並びに考按

第5章 結 論

第1章 緒 言

近年癌に対する一般の関心が非常に高まり、癌の診断面における進歩と相俟つて早期診断、早期治療の根本原則が広く行なわれる様になつて来たのは非常に喜ばしい事である。癌化学療法分野においても種々新しい薬剤が開発されているが、癌の完全治療はなお、とうてい望み得ない現状にあり、時にはかえつて死を早める結果となる可能性さえある。より強力で、かつ副作用が少ない制癌剤の出現が強く望まれるゆえんである。さて、従来の癌の化学療法剤に対する研究はその焦点が主として癌の実質細胞である腫瘍細胞に向けられている様である。しかし乍ら悪性腫瘍は実質及び間質から成り、両者は互に密接な関連のもとに発育し、或は転移により腫瘍を形成する。従つて腫瘍の実質についてみれば、これに伴う間質の発育なくしてはとうてい満足すべき発育を遂げる事は困難であると考えられる。従来、悪性腫瘍における間質の重要性、悪性腫瘍細胞と間質成分である線維芽細胞との関連性について観察した人も多い²⁾⁸⁾⁴⁾。教室では間質の占めるこの様な重要な役割に注目して、癌の固有間質を強力な線維芽細胞抑制剤であるクロロキンによつて障害すれば二次的に癌の実質を障害する事も可能ではないかという独自の理念を抱き、数年来悪性腫瘍にクロロキンを投与して、かなりの効果をおさめて来た⁵⁾⁻¹⁴⁾、著者

は線維芽細胞抑制剤と癌の実質を障害すると考えられる所謂制癌剤との併用が夫々の単独使用よりも一層有効ではないかと考えて基礎的実験を行なつた。従来この様な考えの許に悪性腫瘍の治療を試みた者は存在しない様である。以下 Bashford 癌マウスに及ぼす線維芽細胞抑制剤クロロキンと各種制癌剤併用の影響について述べる。

第2章 実験材料並びに実験方法

実験材料には体重 20 g 前後の本学マウスコロニー飼育の Strong A 系、C₃H 系、RF 系純系マウスを用いた。供試 Bashford 癌株は塩野義研究所保存のものである。移植方法は本腫瘍の移植 1 週間後の背部皮下腫瘍を無菌的に剔出してシャーレに入れ、缺で可及的同等に細切したものを 1 ケ、トロアーカーを介して被検マウスの背部皮下に移植した。マウスの飼料はオリエンタル固形飼料を用い、飲料水は水道水を充分に与えた。実験群を A: 対照群、B: クロロキン単独投与群、C: 制癌剤単独投与群、D: クロロキン・制癌剤併用群の 4 群とし、各群夫々 5 乃至 7 例とした。使用薬剤は A 群には蒸溜水 0.2 cc を、B 群には磷酸クロロキン (バイエル社製 5% Sol.) を蒸溜水で 10 倍希釈した液を実験の都度作成し、その 25mg/kg を、C 群には制癌剤として 5 種を選び、その何れか 1 つを、人体常用量に照して略々同比率になる様投与した。即ちマイトマイシン Q では 0.25

mg/kg を、クロモマイシンA₃では 12.57/kg を、サイクロフォスファマイドでは 15 mg/kg を、ヘマトポルフィリン水銀では 0.5 mg/kg を、プレドニゾンでは大量の 15 mg/kg と少量の 2.5mg/kg を投与した。

D群はクロキン 25 mg/kg と上記制癌剤の1つを併用した。なおクロキンは上記制癌剤と略々同様に人体常用量に照して投与量の決定を行なつたが、この量は勿論マウスを障碍しない範囲の量である。投与方法は移植後24時間目より毎日1回、2乃至3週間に亘り、全て腹腔腔内に投与した。

観察並びに測定を以下の3項目について行なつた。

i) 腫瘍の発育に及ぼす影響

腫瘍の発育程度を検索する手段として、移植背部皮下に形成した腫瘍の大きさを、その横径・縦径の平均値で表わして比較し、2日間隔で計測した。

ii) 平均体重増加率

隔日に、又一定時間に体重を測定し平均体重を求め、移植前と比較して体重増加度を計算し、その増減曲線を以て表わした。

iii) 組織学的検索

マイトマイシンC・クロロキン併用実験について腫瘍のヘマトキシリン-エオジン染色、PAS 反応、トルイジン青によるメタクロマジー法、アザンマロリー染色、ワンギーソン染色、鍍銀染色を実施して組織学的観察を行なつた。

第3章 実験成績

第1節 腫瘍の発育に及ぼす影響

a) クロロキン・マイトマイシンC併用実験

併用群、マイトマイシンC群、クロロキン群、対照群各6例について、移植部皮下腫瘍の大きさを縦径・横径の平均値で表わすと、まず対照群では移植後8日で7.1、12日11.5、14日15.2、17日16.7、20日18.2を示すのに対しクロロキン群は8日6.8、12日9.7、14日11.2、17日14.1、20日13.7と対照群に比し低値を示し、マイトマイシンC群では8日8.0、12日10.1、14日11.5、17日12.5、20日13.1と略々クロロキン群と同じ低値を示し、併用群では8日3.5、12日5.8、14日9.0、17日10.3、20日11.5と4群のうち最低値を示した(図1)。

b) クロロキン・サイクロフォスファマイド併用実験

併用群、サイクロフォスファマイド群、クロロキン群、対照群各6例の移植部皮下腫瘍の大きさの推

図1 Bashford 癌の発育に及ぼす磷酸クロロキン、マイトマイシンC併用の効果 (Strong A系6マウス: 磷酸クロロキン 25 mg/kg 連日腹腔内投与, マイトマイシンC 0.25 mg/kg 5日間連日腹腔内投与)

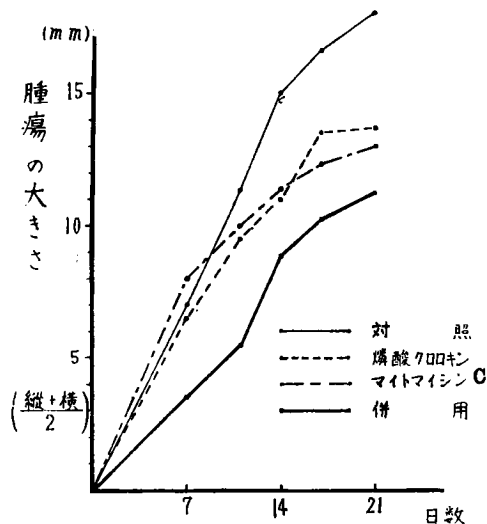
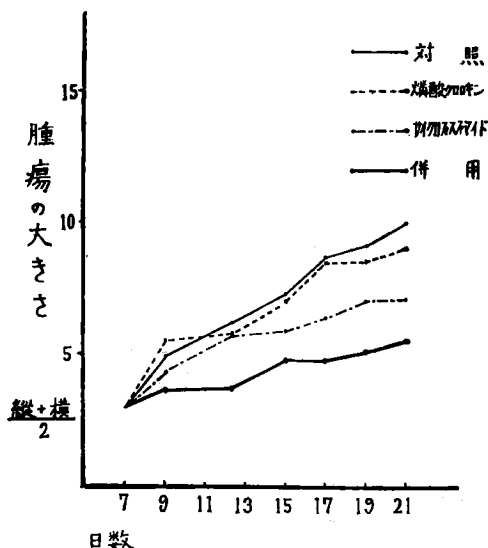


図2 Bashford 癌の発育に及ぼす磷酸クロロキン、サイクロフォスファマイド併用の効果 (Strong A系6マウス: 磷酸クロロキン 25mg/kg 連日腹腔内投与, サイクロフォスファマイド 15 mg/kg 1週間腹腔内投与)



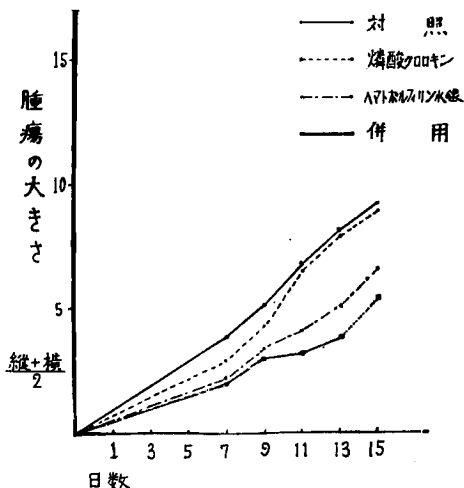
移は、まず対照群では移植後7日で3.0、10日4.9、12日6.2、15日7.3、17日8.7、19日9.1、21日10.0を示すのに対し、クロロキン群は7日3.0、10日5.5、

12日5.8, 15日7.0, 17日8.5, 19日8.5, 21日9.0と17日頃より対照群に較べて少々低値を示す傾向にあり, サイクロフォスファミド群は7日3.0, 10日4.3, 12日5.7, 15日5.9, 17日6.4, 19日7.0, 21日7.1と前二群に比し可成りの低値を示し, 併用群は7日3.0, 10日3.7, 12日3.7, 15日4.8, 17日4.8, 19日5.1, 21日5.5と移植後21日目では対照群の略々1/2であり, 4群中の最低値を示した(図2).

c) クロロキン・ヘマトポルフィリン水銀併用実験

併用群, ヘマトポルフィリン水銀群, クロロキン群, 対照群各6例の移植部皮下腫瘍の大きさの推移は, まず対照群では7日3.9, 9日5.1, 11日6.7, 13日8.1, 15日9.2を示すのに対し, クロロキン群は7日2.9, 9日4.3, 11日6.5, 13日7.8, 15日8.9を示し, ヘマトポルフィリン水銀群は7日2.2, 9日3.4, 11日4.1, 13日5.1, 15日6.6と前2群のいずれよりも低値をとり, 併用群は7日2.0, 9日3.0, 11日3.2, 13日3.8, 15日5.4と4群間の最低値を示した(図3).

図3 Bashford 癌の発育に及ぼす磷酸クロロキン, ヘマトポルフィリン水銀併用の効果 (Strong A系8マウス: 磷酸クロロキン 25mg/kg 連日腹腔内投与, ヘマトポルフィリン水銀 0.5mg/kg 1週間腹腔内投与)

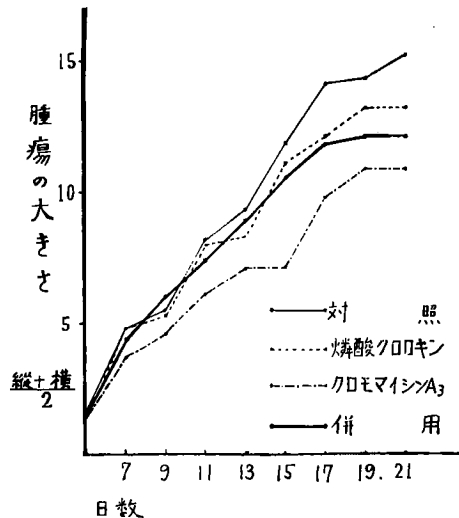


d) クロロキン・クロモマイシンA₃ 併用実験

併用群, クロモマイシンA₃ 群, クロロキン群, 対照群各6例の移植部皮下腫瘍の大きさの推移は, まず対照群では7日2.7, 9日4.8, 11日5.5, 13日8.2, 15日9.3, 17日11.9, 19日14.1, 21日14.3を示す

のに対し, クロロキン群は7日2.4, 9日4.8, 11日5.3, 13日8.0, 15日8.3, 17日11.1, 19日12.1, 21日13.2と対照群に比し15日頃より低値をとり, クロモマイシンA₃ 群は7日2.4, 9日3.6, 11日4.6, 13日6.0, 15日7.1, 17日7.1, 19日9.8, 21日10.9と前2群よりも当初より更に低値を示し, 併用群では7日2.6, 9日4.4, 11日6.0, 13日7.4, 15日8.9, 17日10.5, 19日11.8, 21日12.1と対照群, クロロキン群よりは低値をとるがクロモマイシンA₃ 群よりは高値を示した(図4).

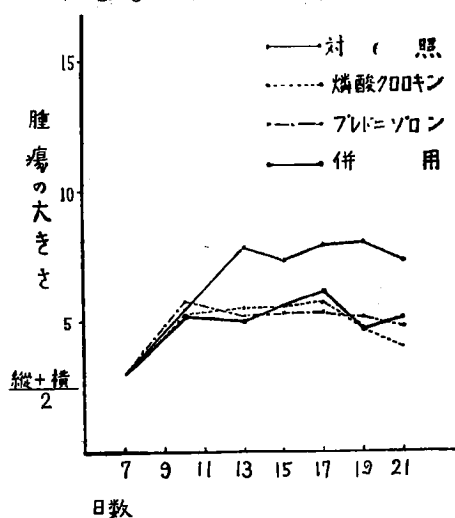
図4 Bashford 癌の発育に及ぼす磷酸クロロキン, クロモマイシンA₃ 併用の効果 (Strong A系8マウス: 磷酸クロロキン 25mg/kg 連日腹腔内投与, クロモマイシンA₃ 12.5mg/kg 1週間 腹腔内投与)



e) クロロキン・プレドニゾロン少量併用実験

併用群, プレドニゾロン (2.5mg/kg) 群, クロロキン群, 対照群各6例の移植部皮下腫瘍の大きさの推移は, まず対照群では7日3.0, 10日5.5, 13日7.8, 15日7.3, 17日7.9, 19日8.0, 21日7.3を示すのに対して, クロロキン群は7日3.0, 10日5.3, 13日5.5, 15日5.5, 17日5.7, 19日4.7, 21日4.0と対照群より低値を示し, プレドニゾロン群は7日3.0, 10日5.8, 13日5.2, 15日5.3, 17日5.3, 19日5.1, 21日4.8とクロロキン群とほぼ同じ値を示し, 併用群では7日3.0, 11日5.2, 13日5.0, 15日5.6, 17日6.1, 19日4.8, 21日5.1と前2群とほぼ同じ値をとり, 対照群を除く3群はいずれもほぼ同様の増減曲線を示した(図5).

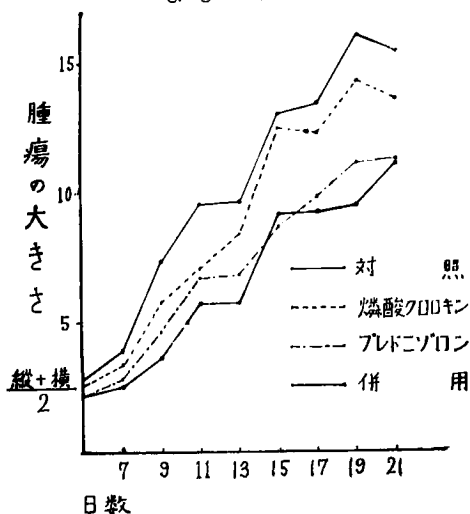
図5 Bashford 癌の発育に及ぼす磷酸クロロキン、プレドニゾン併用の効果 (C₃H系マウス: 磷酸クロロキン 25 mg/kg 連日腹腔内投与, プレドニゾン 2.5 mg/kg 1週間腹腔内投与)



f) クロロキン・プレドニゾン大量併用実験

併用群, プレドニゾン (15 mg/kg) 群, クロロキン群, 対照群各5例の移植部皮下腫瘍の大きさの推移は, まず対照群では7日2.9, 9日4.0, 11日7.3, 13日9.5, 15日9.6, 17日13.0, 19日13.4, 21日16.0を示すのに対して, クロロキン群は7日2.7,

図6 Bashford 癌の発育に及ぼす磷酸クロロキン、プレドニゾン併用の効果 (Strong A系マウス: 磷酸クロロキン 25 mg/kg 連日腹腔内投与, プレドニゾン 15mg/kg 1週間腹腔内投与)



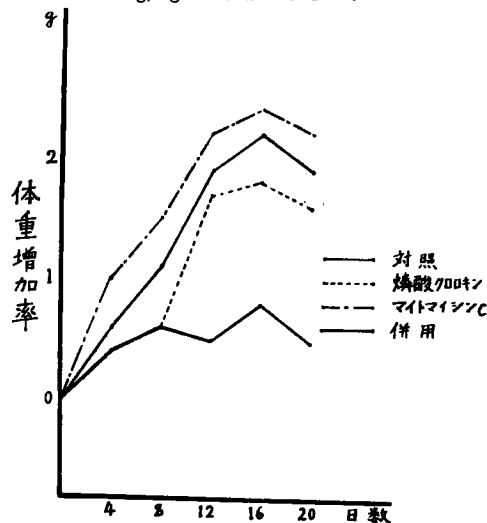
9日3.3, 11日5.7, 13日7.0, 15日8.3, 17日12.4, 19日12.3, 21日14.2と対照群に比し低値を示し, プレドニゾン群では7日2.2, 9日2.8, 11日4.6, 13日6.7, 15日6.8, 17日8.6, 19日9.7, 21日11.1と前2群より低値をとり, 併用群は7日2.6, 9日2.6, 11日3.6, 13日5.7, 15日5.8, 17日9.1, 19日9.2, 21日9.5とプレドニゾン単独群よりも更に稍低値を示した。(図6).

第2節 平均体重増加度

a) クロロキン・マイトマイシンC併用実験

4群共に16日頃まではほぼ同一傾向を示して増加し, 以後減少の傾向を示すが, 併用群は体重増加度が他の3群に比し少なく, 明瞭な差異を認めた(図7).

図7 Bashford 癌マウスの平均体重に及ぼす磷酸クロロキン、マイトマイシンC併用の影響 (Strong A系マウス: 磷酸クロロキン 25 mg/kg 連日, マイトマイシンC 0.25 mg/kg 5日間腹腔内投与)



b) クロロキン・サイクロフォスファミド併用実験

対照群は16日頃まで増加した後減少する。他の3群はほぼ同一曲線を取り, 4日まで増加した後12日頃まで減少, 16日には一時増加するが再び減少傾向を示す。但しクロロキン群は減少の度合いが少なく, 又後半の増減も軽度である。併用群では前半の増加が稍軽度である様に見受けられる(図8).

c) クロロキン・クロモマイシンA₃併用実験

対照群は8日までほぼ直線的に増加後, 急峻な角度で減少する。クロロキン群は8日まで増加, 水平曲線を示した後16日頃より減少傾向を示す。クロモ

図8 Bashford 癌マウスの平均体重に及ぼす
 燐酸クロロキン、サイクロフォスファミド併用の影響 (Strong A系♂マウス:
 燐酸クロロキン 25mg/kg 連日, サイクロ
 フォスファミド 15mg/kg 1週間腹腔
 内投与)

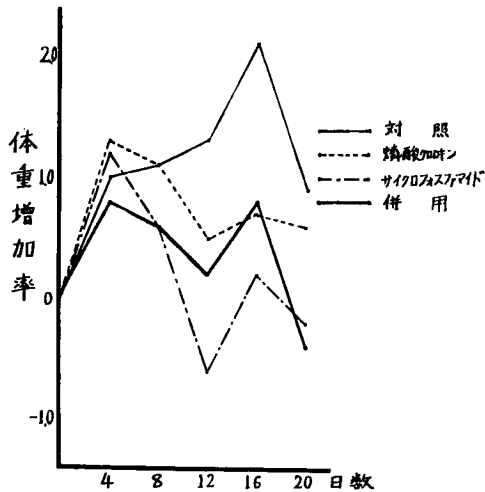
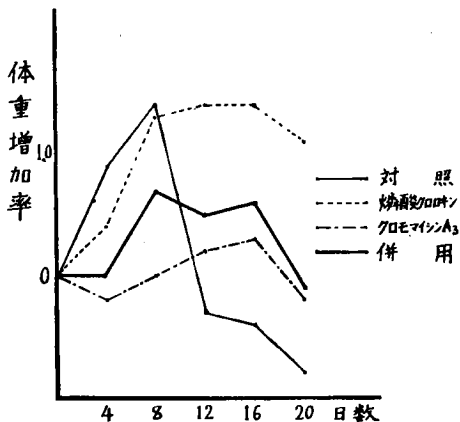


図9 Bashford 癌マウスの平均体重に及ぼす
 燐酸クロロキン、クロモマイシン A₃ 併
 用の影響 (Strong A系♂マウス: 燐酸ク
 ロロキン 25mg/kg 連日, クロモマイシ
 ン A₃ 12.5γ/kg 1週間腹腔内投与)



マイシン A₃ 群は4日頃まで減少後ゆるやかに16日
 まで増加, 以後減少する。併用群は8日まで増加,
 ほぼ水平曲線を示した後16日より減少するが, その
 値は一般にクロモマイシン A₃ 群より高い (図9)。

d) クロロキン・ヘマトポルフィリン水銀併用実験
 対照群は4日まで増加後急激に減少する。クロロ
 キン群は12日まで増加後減少するが16日より水平曲
 線を示す。ヘマトポルフィリン水銀群と併用群は殆

ど同一曲線を示すが, 常に併用群が稍低値をとり,
 特に前半に明瞭である。即ち両群いずれも12日まで
 直線的に増加後一時減少するが16日より再び著明に
 増加の傾向を示す (図10)。

図10 Bashford 癌マウスの平均体重に及ぼす
 燐酸クロロキン、ヘマトポルフィリン水銀
 併用の影響 (Strong A系♂マウス: 燐酸ク
 ロロキン25mg/kg 連日, ヘマトポルフィリ
 ン水銀 0.5mg/kg 1週間腹腔内投与)

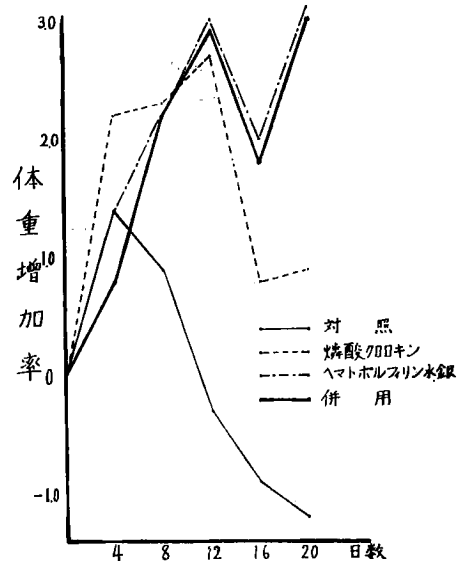
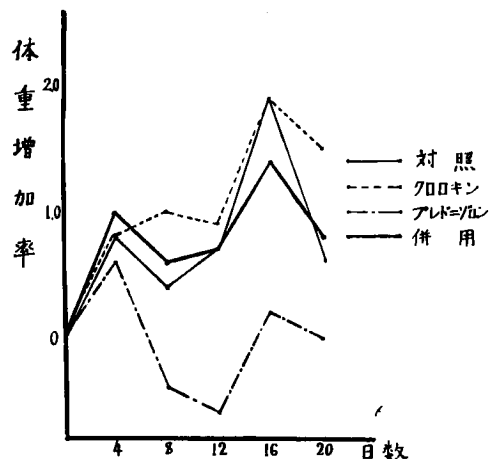


図11 Bashford 癌マウスの平均体重に及ぼす
 燐酸クロロキン、プレドニゾン併用の
 影響 (C₃H系♂マウス: 燐酸クロロキン
 25mg/kg連日, プレドニゾン2.5mg/kg
 1週間腹腔内投与)



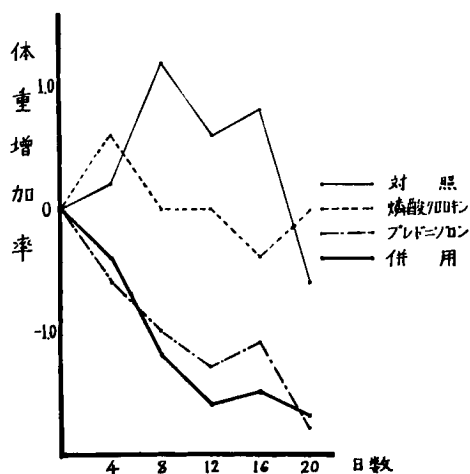
e) クロロキン・プレドニゾン少量併用実験
 プレドニゾン群を除いた3群はほぼ同一曲線を

示し、4日まで増加後12日までやや減少ないし水平曲線を示した後16日まで増加、以後減少する。プレドニゾン群のみは4日まで増加後12日まで急激に減少して移植前値以下となり、16日には前値にまで増加するが再び減少する。併用群はプレドニゾン群に比して前述の如く対照群と共に高い値をとっている(図11)。

f) クロロキン・プレドニゾン大量併用実験

対照群は8日まで増加後減少する。クロロキン群は4日まで増加後、16日まで減少するが、再び増加の傾向を示す。プレドニゾン群と併用群はほぼ同一曲線を示し、最初の値より一度も増加する事なく減少するが、その程度は併用群の方が強い(図12)。

図12 Bashford 癌マウスの平均体重に及ぼす磷酸クロロキン、プレドニゾン併用の影響(Strong A系8マウス: 磷酸クロロキン25mg/kg 連日、プレドニゾン15mg/kg 1週間腹腔内投与)



第3節 組織学的検索

各種制癌剤併用実験のうちで腫瘍の発育抑制の著明なマイトマイシンCとの併用群について組織学的変化を比較検討した。まづクロロキン単独群では対照群(図13)に比し、壊死部の増大がみられるが、個々の癌細胞の変性はさほど著明でなく、又同時に結合織成分の減少が明らかに認められる(図14)。マイトマイシンC単独群では壊死部の増加及び、びまん性の癌細胞の解離と変性像が見られ、一方結合織の増殖と細胞の浸潤を可成り認める傾向にある(図15)。併用群では著明な壊死の増加、びまん性の癌細胞の変性並に解離のみで結合織の増殖とか細胞

浸潤の像は殆ど見出し得ず、実質及び間質双方の抑制がみられた(図16)。

第4章 総括並びに考按

Barhford 癌マウスに線維芽細胞抑制剤クロロキンと所謂制癌剤との併用投与を行なった結果、マイトマイシンC、サイクロフォスファミド、ヘマトポルフィリン水銀では夫々の制癌剤単独投与に勝る発育抑制効果のみ、併用の効果が窺われた。プレドニゾン少量との併用ではその効果は著明でなく、大量投与では稍併用効果が窺われた。クロモマイシンA₃との併用のみは単独群の方により抑制が著明であり、併用効果が認められなかった。

平均体重増加度についてみると、対照群は16日頃まで増加した後、減少の一途をたどった。クロロキン群は12日頃まで増加した後、減少傾向を示す場合と、一旦減少するが再び増加傾向を示す場合があった。制癌剤単独群は種類により夫々異った傾向を示し、マイトマイシンC、ヘマトポルフィリン水銀ではほぼ増加の傾向をとり、サイクロフォスファミドは一時増加するが比較的早期より減少、クロモマイシンA₃は増減少なく、プレドニゾンは投与量によりやや異なるが総じて減少傾向が強い。併用群は種々の増減曲線を示して一定の傾向を見出し難かったが、全般に前半の増加の程度が少ない様であり、後半16日頃より対照と同様の減少傾向を示す場合が多い様である。ただヘマトポルフィリン水銀併用群では後半の著明な増加が印象的である。

組織像についてみると、クロロキン群で壊死部の増大、結合織成分の減少がみられ、マイトマイシンC群で壊死部の増加及びびまん性の癌細胞の変性と解離がみられたが、結合織の増殖と細胞浸潤もみられた。併用群では著明な壊死の増加、びまん性の癌細胞の変性がみられたが、結合織の増殖、細胞浸潤はマイトマイシンC単独に比し、少い傾向にあった。

元来、抗マラリア剤として開発されたクロロキンはその薬理学的作用、分子レベルでの作用等が漸次解明されると共に、その適応も拡大され、エリテマトーデス、リウマチを始めとする各種膠原病、腎炎¹⁵⁾、若菜病^{16)~18)}、気管支喘息^{19)~22)}、てんかん²³⁾、更に慢性肝脾疾患^{24)~26)}と多岐にわたっている。教室では気管支喘息患者に本剤を使用して効果を認めると共に、その作用機転を追求し、Haberland²⁷⁾が認めたよりも更に強力な線維芽細胞抑制作用のある

事を見出すに至った。さて線維芽細胞が悪性腫瘍の増殖と密接な関連を有する事は従来多くの研究者により指摘されている。即ち1925年 Fisher²⁸⁾が組織培養で Raus 肉腫の発育促進的に働く事を示して以来、内外でこれに関連した業績がみられ^{2)~4)}、教室でも柴田²⁹⁾は吉田肉腫の培養の際に線維芽細胞を併置すると増殖が著しく促進される事を認めている。平木らは悪性腫瘍におけるこの現象に注目し、間質の成分である線維芽細胞を抑制すれば、実質腫瘍細胞の増殖も抑制出来るのではないかと考えるに至り、基礎的並びに臨床的研究を行なつて来た^{5)~14)}。従来、腫瘍に関する研究の焦点は専ら実質細胞に向けられ、腫瘍の実質と間質との間の有機的な関係についてはあまり問題とされていなかった様である。吉田³⁰⁾は腫瘍の間質を偶然間質と固有間質に区別して考える事を提言し、前者は実質細胞が増殖するにあたり、その部位に既存の血管結合組織を腫瘍の中に封入したものであり、後者は実質細胞の増殖に随伴して特別に増殖、或は新生した血管、結合組織を意味するとしている。即ち固有間質は腫瘍細胞群ないし実質を支持し、栄養する役割を果す、腫瘍組織に不可欠の成分と言うべき点に意義が認められる様である。教室の小谷³¹⁾は線維芽細胞抑制剤クロロキンを Brown-pearce 癌家兎、吉田肉腫ラッテに用いて抗腫瘍性を示す事をみている。著者は線維芽細胞抑制剤と癌の実質を障碍すると考えられる所謂制癌剤との併用がより有効ではないかと考えて、前述の様に基礎的実験を行なつた。以下 Bashford 癌マウスに及ぼすクロロキンと制癌剤併用の影響について個々の成績を検討したい。

a) マイトマイシンC併用実験

併用群は3日頃より既にマイトマイシンC単独群にまさる抑制像を示し、3週間後の屠殺時までこの効果は維持されて居り、クロロキンとの併用効果が窺われた。さてマイトマイシンCは秦³²⁾、若木³³⁾により放線菌 *Streptomyces caespitosus* から得られた抗癌性抗生物質で、Mitosan と呼ばれる構造式を持ち、キノン、ウレタン、エチレンイミンの3制癌因子の結合体であり、tumor spectrum の広い事が特徴と云われる³⁴⁾³⁵⁾。その作用機構については芝等³⁶⁾が大腸菌について DNA 合成を選択的に障害する事を報告してから、細菌或は癌細胞の DNA 合成を阻止し、酸可溶性の deoxy ribonucleoside 化合物を蓄積する事が多数報告されている^{37)~42)}。又 Reich³⁹⁾は DNA 合成障害よりもすでに出来上がった

DNA を崩壊させる事にあると云う。他方、クロロキンはこれ迄強調して来た線維芽細胞抑制作用の他にも種々な作用を有し⁴³⁾、DNA に対する作用もその一つである。即ち1952年 Parker⁴⁴⁾により、クロロキンが細胞核に集まり、核酸とくに DNA に撰択的親和性を持つ事が既に指摘され、その後もクロロキンと核酸との相互作用についての報告が散見される^{45)~47)}。最近 DNA の合成を抑制する事が認められている⁴⁸⁾。この様にクロロキンは有効血中濃度、又は組織濃度で DNA に対して強い相互作用を持つとの報告は興味深い。本実験の併用効果の機序として線維芽細胞抑制と共に、両者の DNA 合成阻害という代謝面での協調という事も関係すると思われる。今後追求を要する興味ある点と云えよう。ともあれ、クロロキンとマイトマイシンCの併用が単独投与にまさる結果を示した事は実質と間質の両面からの障害作用が腫瘍の発育抑制に対して有利に働いたと考えられるわけで興味深い。

b) サイクロフォスファミド併用実験

本実験でも併用群は当初より単独群にまさる発育抑制を示し、3週後の屠殺時までこの効果は維持され、クロロキン併用の効果が窺われる。サイクロフォスファミドは1958年 Arnold⁴⁹⁾によつてアルキル化剤の masked compound として合成された nitrogen mustard の cyclic phosphamide ester の一つで、生体内で transport 型より active 型に変化して抗腫瘍性を示す抗癌剤である。その作用機序は他のアルキル化剤と同じく一次的に DNA を障害する点にあると云われる。本実験においても併用効果がみられた事は、マイトマイシンC、サイクロフォスファミドがいづれも DNA 代謝阻害剤である点、核酸代謝の面からも興味深い事実と思われる。

c) ヘマトポルフィリン水銀併用実験

本実験では併用群が9日頃より僅かに単独群に勝る様であるが著明ではない。ヘマトポルフィリン水銀は飯島⁵⁰⁾により創製された制癌剤で、従来のアルキル化剤、抗癌性抗生物質等と異なり、制癌剤中で特異な位置を占めるものと云えよう。その作用機序はヘマトポルフィリンの悪性腫瘍親和性⁵¹⁾、金属ポルフィリンの新陳代謝向上作用⁵¹⁾、水銀 SH の反応剤としてのリボヌクレアーゼ阻止作用⁵²⁾、水銀微量投与による悪性腫瘍抑制効果⁵³⁾、ヘマトポルフィリンの解糖抑制効果⁵⁴⁾などであると云われる。従来の化学療法剤の作用は主として局所に限られて居り、全身的作用はむしろ副作用として現れるが、本剤は

癌組織から放出される腫瘍毒物質トキソホルモンの作用を阻止すると共に、衰弱した癌患者の新陳代謝を促進する働きがあり、併用療法のベースとしてしばしば使用されている。一方、クロロキンは又副作用少なく、抗炎症作用、或は宿主に対する全身的影響も考えられる薬剤であり、従つて共通した作用面を持つと考えられる両者の併用実験を行なつたのであるが、その結果は期待に反し併用効果著明とは云い難かつた。これは3週間という比較的短期間の観察という点にもあると思われる。両剤の作用機序から考えて長期併用の成績を検討する必要がある。なお、平均体重増加度の面からみて、対照群が早期より急峻なカーブで減少の一途をたどるのに対し、併用群では後半増加するのはその作用機序と考え合せて興味ある所見と思われる。

d) クロモマイシンA₃ 併用実験

最も顕著な発育抑制を示したのはクロモマイシンA₃単独群であり、併用効果はみられなかつた。さてクロモマイシンA₃は柴田ら⁵⁰⁾によつて放線菌 *Streptomyces griseus* から得られた抗癌性抗生物質で、その作用機序について矢野ら⁵⁰⁾はΔH系腹水肝癌の実験でS-RNA合成を撰択的に阻害する事を報告し、脇坂ら⁵¹⁾は白血病患者の白血球及び兎の骨髓の細胞を用いて、¹⁴C-アデニンのRNAへのとりこみを阻止し、DNAへのとりこみを阻止しない事を観察している。又S-RNA合成阻害のみではなく、核のRNAの代謝回転も阻害すると云われる⁵²⁾。従つて核酸代謝の面からはDNAとRNAの代謝阻害剤の併用実験であるが、併用効果はみられなかつた。クロロキンは一般にDNA代謝阻害剤とよく併用効果を示した点、今後の制癌剤併用の組合せを考えるうえに興味ある点と思われる。

e) プレドニゾロン併用実験

少量(2.5mg/kg)併用実験では、対照群を除いた3群は殆ど同じ発育抑制効果を示し、併用効果は判然としない。全般に腫瘍の発育が対照群も含めて良好でなく、移植腫瘍の性質そのものも考慮する必要があると考えられる。大量(15mg/kg)併用実験では、併用群はプレドニゾロン単独群に比し、稍勝れた発育抑制を示すが併用効果著明とは云い難い。さて副腎皮質ホルモンの移植腫瘍に対する効果については、1944年 Heilman 及び Kendall⁵³⁾が著効を認めてから多数の報告があり、その効果について賛否両説にわかれている。6MPとの併用が急性白血病に極めて優れた効果を示す事は異論のない所であ

ろう⁶⁰⁾⁶¹⁾。しか乍ら白血病を除く移植癌に対する副腎皮質ホルモンと他種制癌剤の併用に関する研究は未だ多くはない^{62)~64)}。副腎皮質ホルモンもその作用の一つにクロロキンと同じく線維芽細胞抑制作用を有し、両者の相乗作用を期待したが、著明な併用効果は得られなかつた。白血病に併用が有効で移植癌に効果が少ないのは副腎皮質ホルモンの有するリンパ組織障害作用の問題が関与していると考えられる。今後更に検討を要する点であろう。

以上、線維芽細胞抑制剤クロロキンと所謂制癌剤、アルキル化物質としてサイクロフォスファミド、抗癌性抗生物質としてマイトマイシンC、クロモマイシンA₃、ホルモンとして副腎皮質ステロイド、特異な位置にあるものとしてヘマトポルフィリン水銀の5種を並び、併用の効果について考察した。一般にマイトマイシンC、サイクロフォスファミド等のDNA代謝阻害剤との併用では効果がみられたが、RNA代謝阻害剤(クロモマイシンA₃)との併用では併用効果がみられなかつた。

第5章 結 論

Bashford 癌マウスを用いて線維芽細胞抑制剤クロロキンと所謂制癌剤との併用実験を行ない、腫瘍の発育、平均体重及び組織像の検討を行ない以下に示す結果を得た。

1. マイトマイシンC、サイクロフォスファミド、ヘマトポルフィリン水銀との併用では夫々の単独投与に勝る発育抑制が示された。

2. プレドニゾロンとの併用では少量併用群では単独群と変らなかつたが、大量併用群では僅かに発育抑制が認められた。

3. クロモマイシンA₃との併用では、併用群よりもクロモマイシンA₃単独群に発育抑制が著明であつた。

4. マイトマイシンCとの併用実験における組織学的検索では、単独投与に比して実質と間質の両面からの障害像が認められ、壊死の増大、個々の癌細胞の変性と共に間質結合組織の抑制傾向が示された。

以上、線維芽細胞抑制剤クロロキンは、特にDNA代謝阻害剤との併用が有意義のようであり、従つて腫瘍の発育に対しては実質、間質双方よりの障害がより有効である場合が多いと考えられる。

撰筆するにあたり、御指導と御校閲を賜つた恩

師平木教授に深甚の謝意を表すと共に終始御助言、
御援助下さった木村郁郎講師に感謝致します。

(本論文要旨は第22回日本癌学会総会にて発表し
た)

文 献

- 1) 山本 正, 他: 癌研究の進歩, 医学書院, 820p, 1960.
- 2) Lettré, H. & Schleich, A.: *Naturwissenschaften*, 41 : 505, 1954.
- 3) 桜井欽夫, 他: 癌, 47 : 644, 1956.
- 4) Schleich, A.: *Naturwissenschaften*, 42 : 50, 1955.
- 5) 平木 潔, 他: 第21回日本癌学会総会記事, 1, 1962.
- 6) 平木 潔, 他: 第21回日本癌学会総会記事, 2, 1962.
- 7) 平木 潔, 他: 日内会誌, 52 : 283, 1963.
- 8) 平木 潔, 他: 日内会誌, 52 : 526, 1963.
- 9) 平木 潔, 他: 総合臨床, 11 : 1807, 1962.
- 10) 平木 潔, 他: 岡山医誌, 75 : 297, 1963.
- 11) 木村郁郎, 他: 日消誌, 60 : 931, 昭38.
- 12) 木村郁郎, 他: 日消誌, 60 : 932, 昭38.
- 13) 木村郁郎, 他: 日消誌, 61 : 1023, 昭39.
- 14) 木村郁郎, 他: 日内会誌, 52 : 213, 昭38.
- 15) 辻 昇三, 他: 総合臨床, 7 : 2343, 昭33.
- 16) 木村郁郎, 他: 総合臨床, 8 : 796, 昭34.
- 17) 木村郁郎: 消化器病の臨床, 2 : 98, 昭34.
- 18) 平木 潔, 他: 日本臨床, 19 : 417, 昭36.
- 19) 平木 潔, 他: 総合臨床, 10 : 325, 昭36.
- 20) 平木 潔, 他: 日本医事新報, 1925 : 45, 1961.
- 21) 平木 潔, 他: アレルギー, 11 : 83, 昭37.
- 22) 守谷欣明: 岡山医誌, 77 : 1233, 昭40.
- 23) 和田豊治, 他: 脳と神経, 13 : 919, 昭36.
- 24) 平木 潔, 他: 消化器病の臨床, 4 : 273, 昭37.
- 25) 平木 潔, 他: 診断と治療, 51 : 1032, 昭38.
- 26) 山名正俊: 岡山医誌, 77 : 887, 昭40.
- 27) Haberland, G. L. et al.: *Z. Rheumaforsch.* 18 : 220, 1959.
- 28) Fisher, A.: *Arch. exp. Zellforsch.*, 1 : 369, 1925.
- 29) 柴田凡夫: 岡山医誌, 73 , 877, 昭36.
- 30) 吉田富三: 吉田肉腫, 寧楽書房, 東京, 昭24.
- 31) 小谷秀成: 岡山医誌, 77 : 949, 昭40.
- 32) Hata, T. et al.: *J. Antibiotics*, 9A:141, 1956.
- 33) Wakagi, S.: *Antibiot. Chemoth.* 8 : 228, 1958.
- 34) 臼淵 勇, 他: 癌, 48 : 447, 昭32.
- 35) Sugiura, K. et al.: *Cancer Res.* 19:438, 1959.
- 36) Shiba, S. et al.: *Nature*, 183 : 1056, 1959.
Bikens J. 1 : 179, 1958.
- 37) Kersten, H. et al.: *Nature*, 190:1195, 1961.
- 38) Levine, M.: *Virology*, 13 : 493, 1961.
- 39) Reich, E. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, 53:132, 1961. 45 : 608, 1960.
- 40) Shatkin, A. J. et al.: *Biochim. Biophys. Acta*, 55 : 277, 1962.
- 41) Ben-Parat, J. et al.: *Nature* 190 : 33, 1961.
- 42) Kernsten, H.; *Biochim. Biophys. Acta*, 55:558, 1962.
- 43) 水島 裕: 最新医学 20 : 104, 昭40.
- 44) Parken, F. S. & J. L. Irvin: *J. Biol. chem.* 199 : 897, 1952.
- 45) Stollar, D. & Levine, L.: *Archives Biochem. Biophys.* 101, 335, 1963.
- 46) Cohen, S. N. et al.: *Arth. & Rheum.* 6:767, 1963.
- 47) Allison, J. L. et al.: *Science*, 149:1111, 1965.
- 48) Cohen, S. N. et al.: *Arth. & Rheum.* 7:302, 1964.
- 49) Arnold, H. et al.: *Naturwissenschaften*, 45, 64, 1958.
- 50) 飯島 登, 他: *Chemotherapy*, 6, 121, 1958.
- 51) Figge, F. H.: *Cancer*, 10, 529, 1957.
- 52) 三浦義彰: 日新医学 14, 521, 昭32.
- 53) 宮地清一: 癌, 45, 448, 昭29. 癌, 48, 434, 昭32.
- 54) Woodward, G. E.: *Cancer Res.*, 18, 403, 1958.
- 55) Shibata, M. et al.: *J. Antibiotics*, Ser. B. XIII, 1, 1960.
- 56) Yano, M. et al.: *J. Biochem.* 53, 461, 1963.
- 57) Wakisaka, G. et al.: *Nature*, 197, 1076, 1963.
Nature, 198, 385, 1963.
- 58) 三浦義彰: 最新医学 17 : 2286, 昭37.
- 59) Heilman, F. R. & Kendall, E. C.: *Endocrinology*, 34, 416, 1944.
- 60) Farben, S. et al.: *Advances in Cancer Research*,

- 61) Hibino, S. et al.: Symposium on the chemotherapy of cancer for the Pasifician area, 1957, Tokyo. 34.
63) 海本世浩: 第17回日本癌学会総会記事, 81, 昭33.
62) 佐藤, 本山: 日本癌学会, 癌シンポジウム, 昭 64) 黒川利雄, 他: 癌の臨床, 6, 220, 昭35.

Studies on the Treatment of Malignant Tumors with Fibroblast-inhibiting Agent

Part I. Effects of the Combined Chemotherapy with Chloroquine and Anti-tumor Agents on Experimental Animal Tumor

By

Toshio MORI

Department of Internal Medicine, Okayama University Medical School
(Director: Prof. Kiyoshi Hiraki)

A fibroblast-inhibiting agent, chloroquine, was administered against Basford cancer in combination with several anti-tumor drugs.

1) In combination with mitomycin C, cyclophamide and hematoporphyllin-Hg, chloroquine showed more inhibitory effect on the growth of the tumor in comparison with single administration of these drugs.

2) The combination of chloroquine and prednisolone showed almost the same inhibitory effect on the growth of the tumor as single administration of either drug.

3) The combination of chloroquine and chromomycin A₃ was less effective than administration of chromomycin A₃ alone.

4) Histologically, the combination of chloroquine and mitomycin C induced an increase of necrotic areas, degeneration of cancer cells and inhibition of stromal connective tissue formation in comparison with single administration of either drug.

5) From these results it is considered that a fibroblast-inhibiting agent, chloroquine, when used in combination with anti-tumor agents which inhibit DNA synthesis is more effective against malignant tumors.

森 論文 附 図

図 13

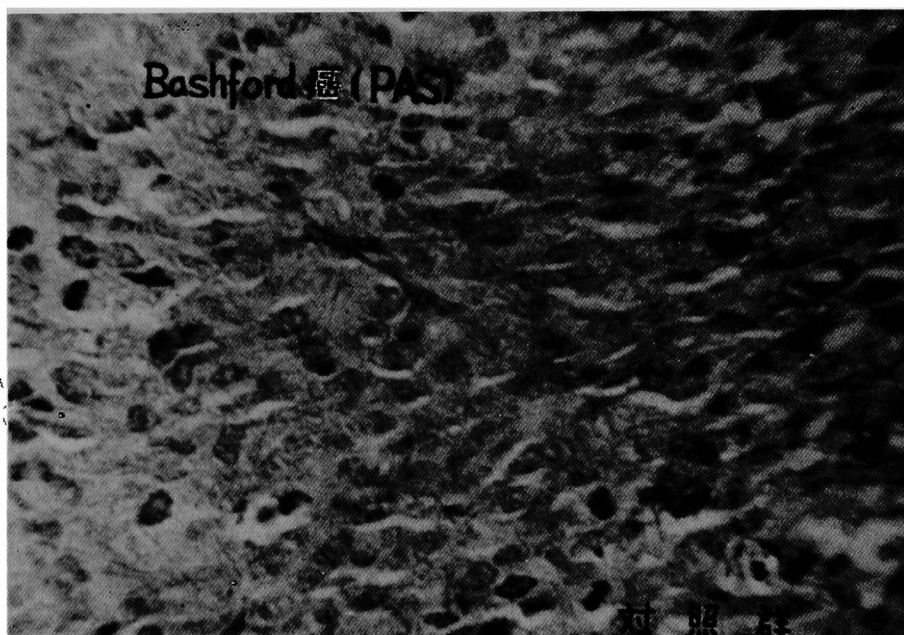
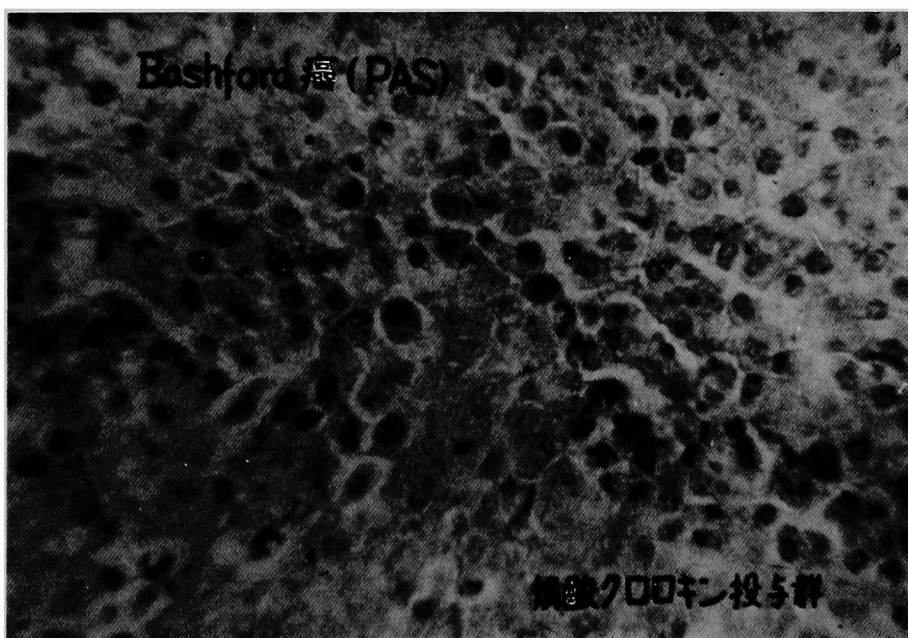


図 14



森 論 文 附 図

図 15

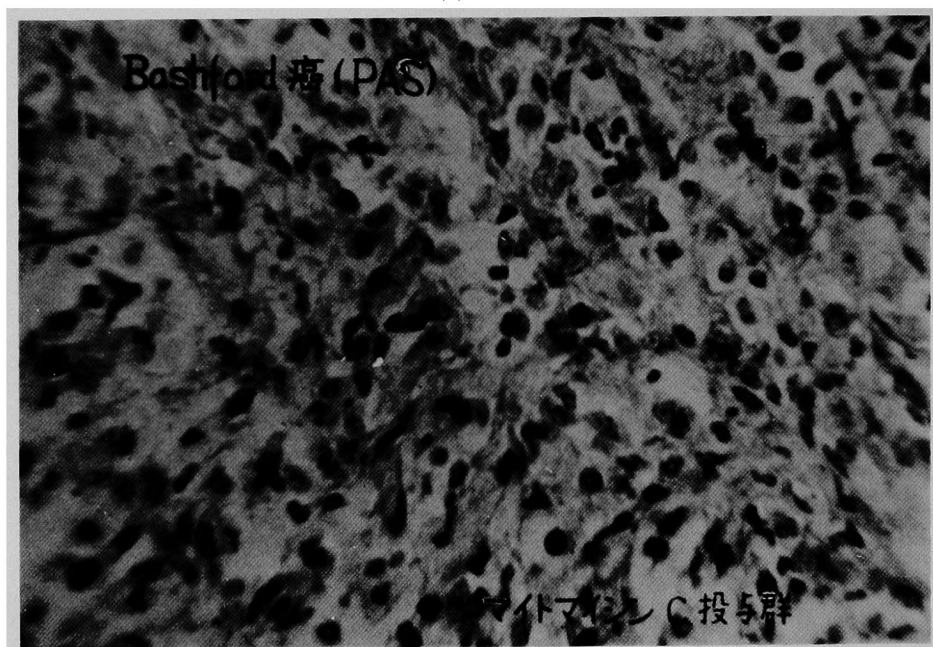


図 16

