岡山医学会雑誌

第77巻7号（第848号）

昭和40年7月30日発行

616—006.04—085.7：615.778.51

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

クロロキンの担腫瘍動物（Brown-Pearce 癌，吉田肉腫）に及ぼす影響

（本論文要旨は第21回日本癌学会総会に於いて発表した）

岡山大学医学部平木内科（主任：平木　潔教授）

副手　小谷秀成

〔昭和40年6月26日受稿〕

内　容　目　次

第1章　緒　言

第2章　Brown-Pearce 癌家兎に及ぼすクロロキンの影響について

　第1節　実験方法

　第2節　実験成績

　　1.　平均生存日数

　　2.　生存率

　　3.　腫瘍発育に及ぼす影響

　　4.　平均体重増加率

　　5.　血液所見並びに血清鉄に及ぼす影響

　　6.　斃死時における転移状況

　第3節　小　括

第3章　吉田肉腫ラッテに及ぼすクロロキンの影響について

　第1節　実験方法

　第2節　実験成績

　　1.　平均生存日数

　　2.　生存率

　　3.　平均体重増加率

　　4.　腹水量及び腹水の性状

　　5.　腹水腫瘍細胞数

　　6.　剖検所見

　第3節　小　括

第4章　総括並びに考按

第5章　結　論

第1章　緒　言

癌医学の発展により癌の治療法も進歩しつつあるが，癌が早期に診断され，これに適した外科的療法や放射線療法が行なわれたとしても，完全治癒にはなお程遠いと云うのが現実であり[1]，従つてこれらを補い，あるいはこれにとつて代る他の療法，即ち化学療法による癌征服への期待は大きく，現在までに色々な方法が試みられて来た．しかし乍らそれらの多くの成績は悲観的であり，本療法完成への道は峻しいものであると考えられる．さて従来の化学療法剤に関する研究の焦点はすべて腫瘍細胞に対する直接的な影響のみに向けられており，而も正常組織に対する影響として常に副作用を考慮せねばならない憂目に遭遇し，使用途中で中止を余儀なくされるという難点があつた．

飜つてここに腫瘍組織について考えてみると，一般に腫瘍組織は実質と間質より構成されており，腫瘍の実質は即ち腫瘍細胞群であるが，間質は血管，神経を伴う線維性結合織で，実質の支持組織として

の癌の発育に不可欠のものとして重要な役割を演じていることは明らかである[2]．即ち両者は互に密接な関連を有し，一般に腫瘍の実質はこれに伴う間質なくしては充分な発育を遂げることは困難であると考えられるのである．悪性腫瘍のかかる間質の重要性について既に Fischer[3] は組織培養において Raus 肉腫に線維芽細胞を併置することにより肉腫細胞の著明な増殖を認めており，又腫瘍細胞と間質成分との緊密な交渉は腫瘍のもつとも本質的な問題であるとする考え方[4] 等悪性腫瘍細胞と線維芽細胞との関連性について観察した人は可成り多く[5][6][7]，教室でも数年前にこの事実を吉田肉腫と線維芽細胞の併置培養において認めている[8]．

以上の考えにより著者らは腫瘍組織のうち間質の占める重要な役割に注目し，これが増殖を抑制する薬剤，線維芽細胞抑制剤を検索中であつたが，折しも気管支喘息[9][10][11][12]，若菜病に[13][14][15] に有効なクロロキンにその作用機序として既に Hoberland[16] も認めた如きより強力な線維芽細胞抑制作用を有することを[10][17] 見出した．そこで前述の悪性腫瘍における間質の占める重要な役割に注目し，幼若な組織と目される，この固有間質を線維芽細胞抑制剤である，クロロキンにより障碍すれば二次的に悪性腫瘍の実質をも障碍するのではないかという教室独自の理念にもとづき，基礎的実験を行なつた．以下担腫瘍動物（Brown-Pearce 癌家兎，吉田肉腫ラッテ）に及ぼす本剤の影響について述べてみたい．

第2章 Brown-Pearce 癌家兎に及ぼすクロロキンの影響について

第1節 実験方法

1. 実験材料

体重2kg 前後の市販雄性白色家兎を用いた．供試 Brown-Pearce 癌株[18][19][20] は岡山大学癌源研究所保存のもので，移植方法は本腫瘍の移植3週後の睾丸部腫瘍を無菌的に剔出して乳鉢に入れ鋏を以つて可及的に細切したものを2～3倍の生理的食塩水で以つて所謂腫瘍粥を作り，その 1ml を輸血針を介して被検家兎の片側睾丸実質内に注入した．家兎の飼料は卯の花を使用した．

使用薬剤は燐酸クロロキン（バイエル社製5% sol）で蒸溜水を以つて2倍稀釈した液を実験の都度作製し，静脈内投与により，その 10mg/kg を移植後24時間目より[21] 毎日1回死亡日まで投与した．対照には蒸溜水の静脈内投与（0.8cc）を行なつた．燐酸クロロキン投与群及び対照群は各々10例としたが，尋常の経過を辿る Brown-Pearce 癌の場合及び腹水の貯溜を認める悪性度のより増加した Brown-Pearce 癌の場合の2回の実験を行なつた．

2. 観察方法並びに測定方法

以下の項目について観察及び測定を行なつた．

i）平均生存日数

各群別に算定し検討を行なつた．

ii）生存率

移植後の生存日数を対照と比較し乍ら生存者百分率曲線を作り，延命効果を検討した．効果の判定は本曲線による50%生存日数が対照群の50%生存日数に比して2倍以上ある時延命効果あるものとした[22]．

iii）本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，移植部睾丸において形成した腫瘍の大きさを，4日間隔で計測し，その横径，縦径の平均値で以つて表わし，比較した．即ちこの方法によりクロロキン投与が腫瘍の発育を抑制するか否かを検討した．

iv）平均体重増加率

隔日1定時間に体重測定を行なつて平均体重を求め，移植前のそれと比較して体重増加率を計算し，その増減曲線を以つて表わした．

v）血液所見並びに血清鉄に及ぼす影響

移植後1週間々隔で赤血球数，血色素及び白血球数を測定し，又同時に採血して血清鉄[23]の定量を行ない，これらに及ぼす影響について検討した．

vi）転移状況

腫瘍死後剖検を行ない，特に各臓器の転移に及ぼす影響について肉眼的に観察し，検討を加えた．

第2節 実験成績

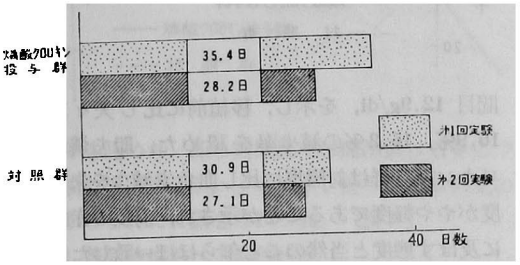
1. 平均生存日数

i）第1回実験

生存日数について移植後の推移を観察すると対照群10例においては移植後16日目より死亡し始め，2～3週に2例，3～4週に2例，4～5週に2例で35日迄に計6例死亡し，以後は67日に1例死亡し後3例は生存をみた．従つて全例についての厳密な意味での平均生存日数は算出できないが，移植後40日までの観察にては10例平均30.9日をみ，70日までの観察では42.6日をみる．これに対して燐酸クロロキン投与群10例においては，先づ死亡し始める時期が遅れて，移植後19日より始まり2～3週に1例，3～4週に1例，4～5週に2例で34日までに計4例死亡したが，その後の死亡例はなく，6例の生存を

見た．従つて上記同様の観察方法によると，移植後40日までの平均生存日数は35.4日，70日までの観察では53.4日となる．即ち燐酸クロロキン投与群では，可成り著るしい平均生存日数の延長を認めることが出来た．（図1）

（図1）Brown-Pearce 癌家免生存日数に及ぼす燐酸クロロキンの影響
（白色♂家兎・10mg/kg 連続靜脈内投与）



ii）第2回実験

腹水貯溜を認める，悪性度のより増加したと思われるものについて，第1回実験と同様に観察した．即ち対照群10例においては移植後17日目より死亡し始め，2～3週で3例，3～4週で3例，4～6週で2例，即ち37日迄に計8例の死亡をみた．従つて移植後40日までの観察にては，平均生存日数は27.1日である．これに対し，燐酸クロロキン投与群10例にては17日目より死亡し始め，2～3週で4例，3～4週で1例，4～6週で2例，即ち39日までに計7例の死亡をみた．従つて40日までの経過では平均生存日数は28.2日となる．即ち同じ Brown-Pearce 癌家兎においても悪性度の増加したと思われるものでは第1回実験と同様の実験の実施にもかかわらず，クロロキン投与群において著明な差異を見出すことが出来なかつた．（図1）

2. 生存率

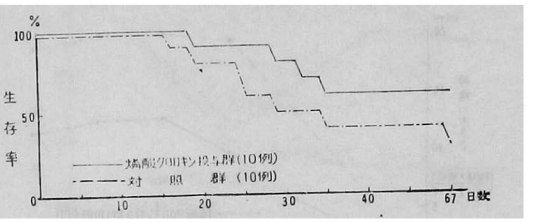
i）第1回実験

対照群にては移植後15日目より著明に低下し始め，67日で生存率は30%の低値を示した．これに対して，燐酸クロロキン投与群ではやや遅れて18日目より次第に低下し始め，以後対照群との間には可成りの隔差を保つている．そして35日以降は死亡例なき為，生存率は60%と対照の2倍の値を示した．（図2）

ii）第2回実験

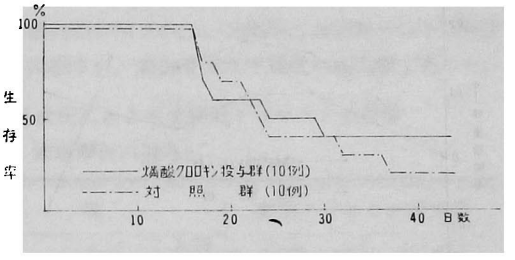
前項 ii）で述べた腹水貯溜を認める悪性度のより増加したものについて第1回実験と同様検索したところ，その生存率は対照群では移植後17日で80%，その後著明に低下して25日で40%，後漸次低下し，

（図2）Brown-Pearce 癌家兎生存率に及ぼす燐酸クロロキンの影響（実験1）
（白色♂家兎・10mg/kg 連続靜脈内投与）



40日で20%を示した．これに対して，燐酸クロロキン投与群では移植後17日で70%，25日で50%，30日で40%，40日で30%を示した．即ち前項 ii）で示した成績と当然のこと乍らら一致し，燐酸クロロキン投与群において著明な差異を見出すことが出来なかつた．（図3）

（図3）Brown-Pearce 癌家兎生存率に及ぼす燐酸クロロキンの影響（実験2）
（白色 ♂ 家兎・10mg/kg 連続靜脈内投与）



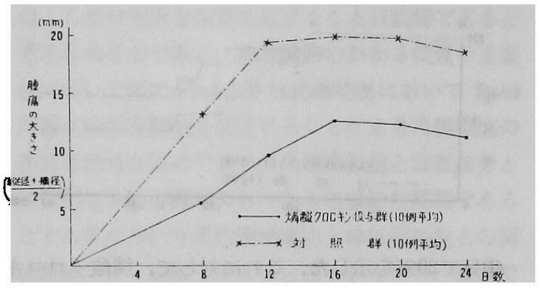
3. 腫瘍発育に及ぼす影響

燐酸クロロキン投与群，対照群各10例について，移植部睾丸に於ける腫瘤の大きさを縦径，横径の平均値で以つて表わすと，先づ対照群では移植後8日で13.0，12日19.25，16日19.95，20日19.65，24日18.25を示すのに対し，クロロキン投与群では8日5.6，12日9.75，16日12.85，20日12.3，24日11.45，と可成りの低値を示した．即ち対照群の睾丸部腫瘤は日を逐つて著るしく増大するのに反し，クロロキン投与群ではその発育は著るしく抑制され，移植後，数日にして顕著な差異を示す様になり，8日目では対照群の約1/2程度の低調な発育状態を示し，以後2週頃までに可成りの差異を維持し，更にその後も対照群との間に一定の差を保持する結果が示され，明瞭な発育の抑制が認められた．（図4）

4. 平均体重増加率

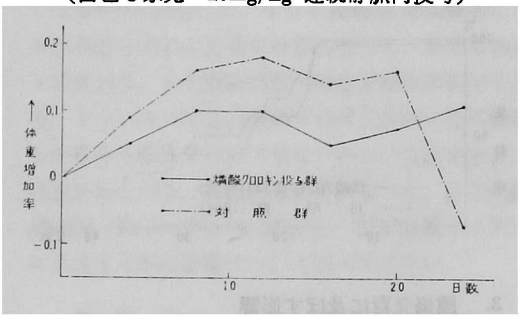
対照群は12日頃まで漸次増加した後，減少し始め20日頃より急峻なカーブを描いて減少の一途をたど

（図４）Brown-Pearce 癌の発育に及ぼす燐酸クロロキンの影響
（白色♂家兎・10mg/kg 連続靜脈内投与）



り，24日には −0.7kg まで減少する．これに対して燐酸クロロキン投与群では20日頃までは対照よりも低い増加率を示しているが，それ以後は対照とは逆に急峻なカーブを描いて増加の一途をたどり24日には +0.11kg まで増加する．（図５）

（図５）Brown-Pearce 癌家兎平均体重増加率に及ぼす燐酸クロロキンの影響
（白色♂家兎・10mg/kg 連続靜脈内投与）



5.　血液所見並びに血清鉄に及ぼす影響について

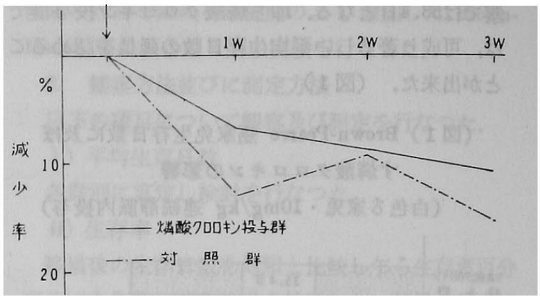
i）赤血球数に及ぼす影響

対照群においては赤血球数は移植後１週間目で466.8×10⁴，２週間目で485×10⁴，３週間目で455.7×10⁴，を示し，移植前に比し夫々12.9%，9.5%，15.2%の減少率を認めた．これに対して燐酸クロロキン投与群においては１週間目502.8×10⁴，２週間目487×10⁴，３週間目479.6×10⁴と移照前に比し6.4%，9.2%，10.7%の減少率を示した．即ち燐酸クロロキン投与群は対照群に比し赤血球減少を来たす程度がやや軽度であることが窺われた．（図６）

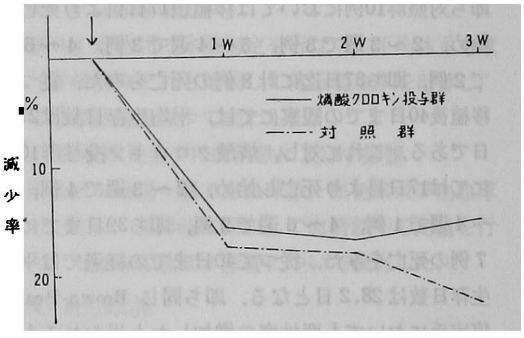
ii）血色素に及ぼす影響

対照群においては移植後１週間目 12.5g/dl，２週間目 12.4g/dl，３週間目 11.7g/dl，を示し，移植前に比し夫々17.7%，18%，22.9%の減少率を認めた．これに対して，燐酸クロロキン投与群においては１週間目 12.8g/dl，２週間目 12.6g/dl，３週間目 12.9g/dl，を示し，移植前に比し夫々15.8%，16.9%，15.2%の減少率を認めた．即ち燐酸クロロキン投与群は対照群に比し血色素減少を来たす程度がやや軽度であることが示され，前項の赤血球数に及ぼす態度と当然のこと乍らほぼ一致した傾向が示された．（図７）

（図６）Brown-Pearce 癌家兎赤血球数に及ぼす燐酸クロロキンの影響



（図７）Brown-Pearce 癌家兎血色素数に及ぼす燐酸クロロキンの影響



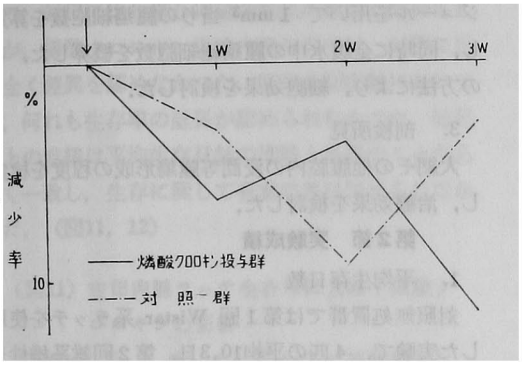
iii）白血球数に及ぼす影響

対照群においては白血球数は移植後１週間目で8540，２週間目7980，３週間目8550を示し移植前に比し夫々3.0%，9.3%，2.9%と軽度の減少率を示したが，燐酸クロロキン投与群でもほぼ同様の傾向を示し，１週間目 8260（6.2%），２週間目 8480（3.7%），３週間目7800（11.4%）という成績を示した．即ち白血球数に対しては何ら有意の差が示されなかつた．（図８）

iv）血清鉄に及ぼす影響

対照群において血清鉄は移植後１週間目で101.6γ%，２週間目97.3γ%，３週間目96.5γ%を示し，移植前129.3γ%に比し夫々21.4%，24.8%，25.4%，の減少率を認めた．これに対して，燐酸クロロキン投与群では１週間目 105γ%，２週間目 123.6γ%，３週間目120.6γ%と夫々 18.6%，4.2%，6.5%の

（図8）Brown-Pearce 癌家兎白血球数に及ぼす燐酸クロロキンの影響

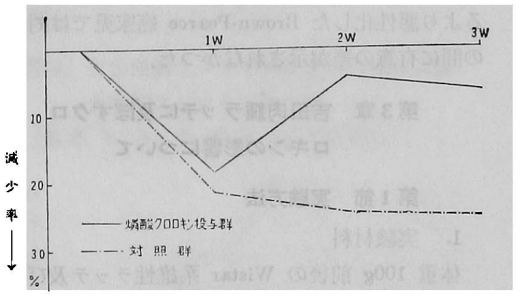


減少率を認めた．即ち対照群では血清鉄は日を追つて可成り低下するが，クロロキン投与群では軽度の低下がみられたに過ぎなかつた．（図9）

6. 斃死時における転移状況

腫瘍の発育抑制及び延命効果等の認められた実験例において，対照群の斃死した7例及びクロロキン投与群の斃死した4例にについてその剖検を行ない，転移形成の状況を肉眼的に観察した結果，対照群では転移は全身の臓器或は部位にわたつて広汎な蔓延散布が高度に認められ，特に腎，大網，横隔膜，後

（図9）Brown-Pearce 癌家兎血清鉄に及ぼす燐酸クロロキンの影響



腹膜，肺肋膜等において著明であることが示された．これに対して燐酸クロロキン投与群では屠殺時でなく斃死時に於いてさえ全般に転移の減少傾向が認められ，殊に胸部臓器では転移の僅少である結果が得られた．（表1）

第3節　小　括

Brown-Pearce 癌家兎に燐酸クロロキン 10mg/kg を連日投与した場合，その家兎は対照に比し著るしく延命し，又腫瘍の発育が抑制され，体重の増加する傾向等が示された．又同時に血清鉄の低下は軽度に抑制され，貧血を来たす程度が極軽度であつた．

（表1）Brown-Peaca 癌家兎斃死時における転移状況におよぼす燐酸クロロキンの影響
（白色♂家兎・10mg/kg 連続靜脈内投与）

		対照群							燐酸クロロキン投与群			
生存期間（日）		2～3週		3～4週		4～5週		5週以上	2～3週	3～4週	4～5週	
		16	19	25	25	29	35	67	19	29	32	34
家兎番号		23	41	21	25	37	39	35	24	30	26	43
被検臓器	皮膚	++	++			+	+			+		+
	脳										+	
	眼	+					+++				+++	
	心		+	+		+						
	肺	+++	+++	+		+	+	+++		+	++	
	肋膜	+	+	++	+	+	+				+	+
	横隔膜	++	+	++	++	++	++		++	+	++	+
	腹膜	+		+	+	+	+	+++	+++	+		+++
	胃腸					+						
	肝		+						+	+++		
	腎	+	+++	+	++	+	+++		+	++++	+++	+
	大網	+++	++++	++++	+++	++			++	+++		+++
	淋巴腺 腸間膜	+	+	+		+	+		++			
	淋巴腺 後腹膜		+	++	+	++	+++		+	++	+	+++
	腹水	++			++				++			

斃死時における転移状況については，投与群では転移の少ないことが認められた．なお腹水貯溜を認めるより悪性化した Brown-Pearce 癌家兎では対照との間に有意の差が示されなかつた．

第3章 吉田肉腫ラッテに及ぼすクロロキンの影響について

第1節 実験方法

1. 実験材料

体重 100g 前後の Wistar 系雄性ラッテ及び市販雑系雄性ラッテに移植後5日目の吉田肉腫（岡山大癌源施設保存）を移植し，移植後24時間目の動物を実験に供した．移植細胞は生理食塩水で稀釈した腹水 0.2ml 中に腫瘍細胞100～200万個が含まれるように計算して，腹腔内に移植した[24]．マウスの飼料はオリエンタル固形飼料を用い，飲料水は水道水を給水壜で与えた．

使用薬剤は燐酸クロロキン（バイエル社製5％sol）で蒸溜水をもつて適宜稀釈し，所要量が常に溶液 0.1cc 中に含まれるようにした液を実験の都度作製し，用に供した．燐酸クロロキンは静脈内（尾静脈）及び腹腔内投与の二方法により移植後24時間目より毎日1回24時間毎に死亡日迄投与した．

実験群は静脈内投与群及び腹腔内投与群の二群に分ち，何れも燐酸クロロキン 25mg/kg を使用した．対照群としては蒸溜水静脈内投与群及び無処置群に分ち各群は5例宛とした．そして斃死及び屠殺の場合（治療1週後）の2通りの実験を行なつた．

2. 観察方法並びに測定方法

死亡日まで治療を行ない乍ら，以下の項目について観察し，すべて死後剖検を行なつた．

i）平均生存日数

ii）生存率

i）ii）ともに第2章第1節と同様に実施した．

iii）平均体重増加率

抗腫瘍剤の効果の程度を推定する[24][25]ために平均体重増加率を求めた．即ち隔日に体重測定を行なつて平均体重を求め，移植前のそれと比較して体重増加率を計算し，その増加曲線を以つて表した．

iv）剖検所見

斃死時及び屠殺時に腹水量及び性状，腹水腫瘍細胞数，及び腫瘍形成の有無について検討した．

1. 腹水量及び腹水の性状

腫瘍の発育状況を腹水貯溜状態により追求した．

2. 腫瘍細胞数

撲殺後直ちに腹水を採取し，白血球測定用メランジュールを用いて 1 mm^3 当りの腫瘍細胞数を算定し，同時に全腹水中の腫瘍総細胞数を概算した．この方法により，細胞効果を検討した．

3. 剖検所見

大網その他腹腔内の浸潤等腫瘍形成の程度を検索し，治療効果を検討した．

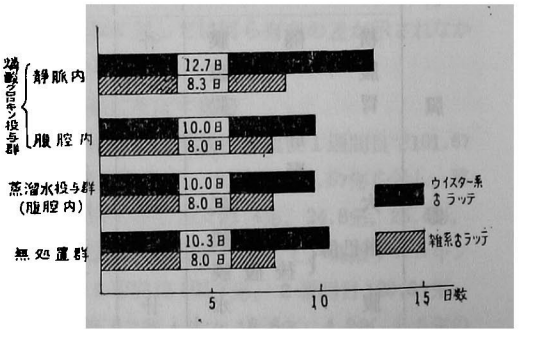
第2節 実験成績

1. 平均生存日数

対照無処置群では第1回 Wistar 系ラッテを使用した実験で，4匹の平均10.3日，第2回雑系雄性ラッテを使用した実験で5匹平均8.0日であつたが，これらの死亡日数は第1回実験では9日より12日の間に分布し，第2回実験では7日より10日の間に分布し，何れも腫瘍死している．対照蒸溜水腹腔内投与群では第1回実験で10.0日（4匹平均），第2回実験で8.0日（5匹平均）で，これらの死亡日数は前者で8日より12日，後者で6日より9日に分布している．燐酸クロロキン 25mg/kg 静脈内投与群においては，第1回実験で12.7日（4匹平均），第2回実験で8.3日（5匹平均）を示した．そしてこれらの死亡日数は前者で11日より14日，後者で6日より10日の間に分布し，何れも治癒したものは存在しなかつた．

燐酸クロロキン 25mg/kg 腹腔内投与群においては，第1回実験で10.0日，（4匹平均）第2回実験で8.0日（5匹平均）を示し，これらの死亡日数は前者で8日より10日，後者で7日より9日に分布し，前記静脈内投与群と同様治癒したものは認めなかつた．即ち一般に大差ないが静脈内投与群でやや延長の認められる傾向が示された．（図10）

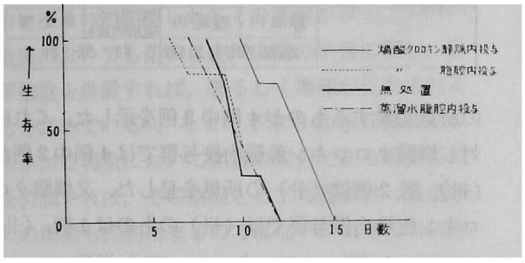
（図10）吉田肉腫ラッテ生存日数におよぼす燐酸クロロキンの影響
（25mg/kg 投与）



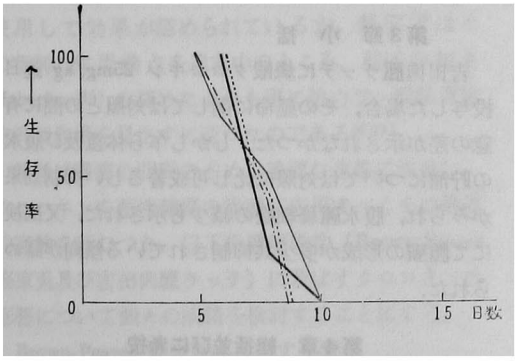
2. 生存率

第1回実験においては燐酸クロロキン静脈内投与群で，対照に比し僅かに延命効果の傾向が認められたが，燐酸クロロキン腹腔内投与群では，対照に比し全く差異を認めなかつた．又第2回実験においては，何れも生存率の延長が認められなかつた．結局以上の成績は平均生存日数の推移と当然のこと乍らよく一致し，生存に関して有意の差は認められなかつた．（図11，12）

（図11）吉田肉腫ラッテ生存率に及ぼす燐酸クロロキンの影響
（Wistar 系 ♂ ラッテ・25mg/kg 連続投与）



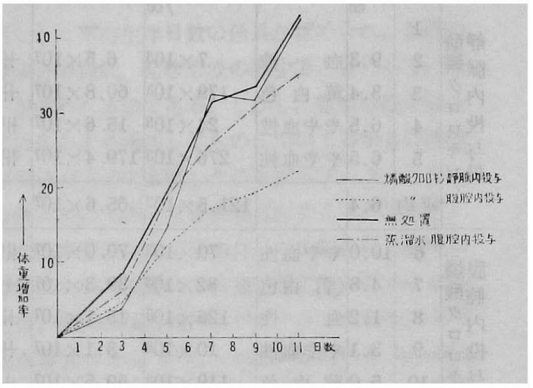
（図12）吉田肉腫ラッテ生存率に及ぼす燐酸クロロキンの影響
（雑系♂ラッテ・25mg/kg 連続投与）



3. 平均体重増加率

対照の無処置群は急峻なカーブを描いて，又同じく蒸溜水投与群は無処置群に比し稍々緩除なカーブを描いて体重増加をみる．これに対し燐酸クロロキン静脈内投与群は，初期において上記対照よりは緩除なカーブをえがくが，後は無処置群と殆んど変らないカーブを描いて上昇する．しかし乍ら，燐酸クロロキン腹腔内投与群は極めて緩除なカーブを描いているのが目立ち，特に初期には燐酸クロロキン静脈内投与群と殆んど差がないが，その後は極めて除除に上昇し，死亡前ではその体重増加は無処置群の約半分である．この場合体重の増加即ち腹水貯溜が抑制されたことが明瞭に示されたのである．
（図13）

（図13）吉田肉腫ラッテ平均体重増加率に及ぼす燐酸クロロキンの影響
（雑系 ♂ ラッテ 25mg/kg 連続投与）



4. 腹水量及び腹水の性状

燐酸のクロロキン投与1週後，屠殺した吉田肉腫ラッテの腹水量は無処置群で 5.0cc～12.0ec 平均 7.4cc，蒸溜水腹腔内投与群で 3.2cc～18.8cc （平均12.4cc）である．これに対して燐酸クロロキン静脈内投与群では 3.4cc～9.3cc（平均6.4cc），燐酸クロロキン腹腔内投与群では 1.2cc～10.0cc（平均4.8cc）である．腹水の肉眼的性状は燐酸クロロキン投与群と対照群との間に格別な差異を見出し得ない．以上腹水貯溜に関しては燐酸クロロキン腹腔内投与群の成績が一番よくこれに次ぐ静脈内投与群でも対照群との間に可成りの差が認められる．
（表2）

5. 腹水腫瘍細胞数

1 mm^3 及び全腹水中の腫瘍細胞数を測定すると（（ ）内は平均値），無処置群においては 70×10^3～$568\times10^3/mm^3$（$239.2\times10^3/mm^3$），全腹水中には 37.8×10^7～568×10^7（179.4×10^7），蒸溜水腹腔内投与群においては 59×10^3～$582\times10^3/mm^3$（$253\times10^3/mm^3$），全腹水中には 110.9×10^7～393.9×10^7（206.9×10^7）である．これに対し燐酸クロロキン静脈内投与群においては 7×10^3～$276\times10^3/mm^3$（$121.5\times10^3/mm^3$），全腹水中には 6.5×10^7～$179.4\times10^7/mm^3$），燐酸クロロキン腹腔内投与群においては，10×10^3～$126\times10^3/mm^3$（$81.4\times10^3/mm^3$），全腹水中には 3.1×10^7～70.0×10^7（39.4×10^7）である．即ち以上の成績は前項に示した如く，腹水量の推移とよく一致しており，燐酸クロロキンの腹腔

（表２）吉田肉腫ラッテ腹水に及ぼす燐酸クロロキンの影響

（雑系♂ラッテ・25mg/kg 連続投与１週後屠殺）

	動物番号	腹水量(cc)	腹水の性状	細胞数 1cc当り	細胞数 全腹水中	腫瘍形成
		cc		/cc		
静脈内投与群 燐酸クロロキン	1	—	—	—	—	
	2	9.3	血性	7×10^3	6.5×10^7	＋＋
	3	3.4	黄白色	179×10^3	60.8×10^7	＋＋
	4	6.5	やや血性	24×10^3	15.6×10^7	＋＋＋
	5	6.5	やや血性	276×10^3	179.4×10^7	＋＋＋
	平均	6.4		121.5×10^3	65.6×10^7	
腹腔内投与群 燐酸クロロキン	6	10.0	やや血性	70×10^3	70.0×10^7	＋＋＋
	7	4.8	(黄)白色	82×10^3	39.3×10^7	(＋)
	8	1.2	血性	126×10^3	15.1×10^7	＋＋
	9	3.1	やや血性	10×10^3	3.1×10^7	＋＋
	10	5.0	黄白色	119×10^3	59.5×10^7	＋
	平均	4.83		81.4×10^3	39.4×10^7	
腹腔内投与群 蒸溜水	11	18.8	黄白色	59×10^3	110.9×10^7	＋＋
	12	19.5	黄白色	202×10^3	393.9×10^7	＋＋＋
	13	8.1	血性	169×10^3	136.8×10^7	＋＋＋
	14	3.2	血性	582×10^3	186.2×10^7	＋＋＋
	15	—	—	—	—	
	平均	12.4		253×10^3	206.9×10^7	
無処置群	16	5.0	やや血性	156×10^3	78.0×10^7	＋＋＋
	17	1.5	白色	252×10^3	37.8×10^7	＋＋＋
	18	10.0	黄白色	568×10^3	568.0×10^7	＋＋
	19	12.0	血性	70×10^3	84.0×10^7	＋＋＋
	20	8.6	血性	150×10^3	127.0×10^7	＋＋＋
	平均	7.4		239.2×10^3	179.4×10^7	

内投与群においては明らかに腫瘍細胞の減少がみられ，又燐酸クロロキン静脈内投与群においても対照に比し著るした効果が認められる．（表２，図14）

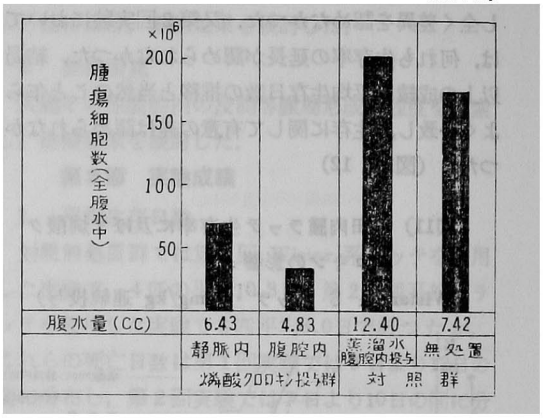
6. 剖検所見

致死時における開腹所見について，特に腫瘍の浸潤，腫瘤形成の程度を検索した．浸潤及び腫瘤形成のないものを(－)，大網浸潤より小腫瘤形成に至るまでのものを（＋），肝，痺，腎その他の臓器にまで広範囲に及ぶ浸潤及び腫瘤形成を見るものを(＋＋)とし，（＋）と（＋＋）の中間の程度に値するものを(＋)とした所，表に示す如き成績を得た．

即ち対照の無処置群では（＋＋）の所見を示すものが５例中４例であり，蒸溜水腹腔内投与群では(＋＋)

（図14）吉田肉腫ラッテ腹水腫瘍細胞におよぼす燐酸クロロキンの影響

（雑系 ♂ ラッテ25mg/kg 連続投与，一週間後屠殺）



の所見を呈するものが４例中３例を示した．これに対し燐酸クロロキン静脈内投与群では４例中２例が(＋＋)，後２例は（＋）の所見を呈した．又燐酸クロロキン腹腔内投与群では（＋＋）のものは１例，(＋)が２例，（＋）が２例であつた．即ち燐酸クロロキン投与群においては，対照に比し腫瘤形成に関してやや抑制的にある傾向がみられ，特に静脈内投与群において差が認められる．（表２）

第３節 小 括

吉田肉腫ラッテに燐酸クロロキン 25mg/kg 連日投与した場合，その延命に関しては対照との間に有意の差が示されなかつた．しかし乍ら体重及び腹水の貯溜については対照に比し可成著るしい抑制効果がみられ，腹水腫瘍細胞の減少も示された．又剖検にて腫瘤の形成が多少共抑制されている傾向が認められた．

第４章 総括並びに考按

著者は線維芽細胞抑制剤による悪性腫瘍の治療を担腫瘍動物に試み，その結果以上に示す如き成績が得られた．緒言にも述べた如く，本療法は強力な線維芽細胞抑制剤を悪性腫瘍に使用して，その固有間質を障碍し，二次的に癌の実質を破壊し，腫瘍の発育を阻止せんとするものである．さて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，腫瘍における実質と間質との間の有機的な関係については殆んど問題とされていない様であつた[2]．吉田[4]は腫瘍における間質を偶然間質と固有間質に区別して考えることを提言し，前者は実質細胞が増殖するに

当りその部位に既存の血管，結合織を腫瘍の中に封入したもので，後者は実質細胞の増殖に随伴して特別に増殖成長或いは新生した血管，結合織を意味するものであるとしている．

即ち腫瘍細胞群乃至実質を支持し，栄養する役割を果す，いわば腫瘍組織に不可欠の成分と言うべき，腫瘍内部の結合織，或いは血管は固有間質であることに意義が認められるようである[2]．

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を有することは，従来多くの人々により研究され，認められている．即ち既に1925年Fischer[3]は組織培養において線維芽細胞がRous肉腫の発育に促進的に働くことを示して以来，内外においてこれに関連した多くの業績がみられ[4][5][6][7]，当教室においても柴田は吉田肉腫の培養に際し，線維芽細胞を併置すれば，著るしく増殖が促進されることを認めている[8]．そこで平木らは悪性腫瘍におけるかかる現象において間質の成分である線維芽細胞を抑制すれば，その結果として実質細胞（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つた[26]．さて線維芽細胞抑制剤として使用したクロロキンは本来，抗マラリア剤であり，最近ではエリテマトーデス，リウマチをはじめとする膠原病[27]，腎炎，若菜病[13][14][15]，更に気管支喘息に[9][10][11][12]使用して効果が認められているが，教室ではその薬剤の作用機点を追求中のところ，前述の如きHaberland[16]の認めたよりも更に強力な，線維芽細胞抑制作用を見出すに至つたのである[10][17]．

著者は腫瘍の間質の占める重要な意義に注目し，クロロキンを悪性腫瘍の治療に応用すべくその基礎的実験を行なつた．以下担腫瘍動物（Brown-Pearce癌家兎及び吉田肉腫ラッテ）に及ぼすクロロキンの影響について個々の成績を検討することにする．

Brown-Pearce 癌家兎に及ぼす影響

Brown-Pearce 癌家兎[18][19][20]は移植率が良好であるのみならず，広汎且高度の転移を形成し，腫瘍死までの生存期間が長い（3週～1ケ月）と言う特徴を有しているので担腫瘍動物中では比較的人癌に類したものと考えられ実験腫瘍学上重要な材料である．従つてこれについて薬剤（クロロキン）の抗腫瘍性を検討することは基礎実験上甚だ合理的と考えられる．以下クロロキンのBrown-Pearce癌家兎に及ぼす個々の成績について考按を加えてみると，先づ平均生存日数については，クロロキンが特に著効を示した第1回実験では投与群では死亡の開始が遅れ，対照との間に可成りの隔差を保つている．70日以上生存したものが対照10例中3例，投与群10例中6例であり，従つて70日迄で経時的に平均生存日数を算出すると移植後40日目での平均生存日数は投与群で35.4日と対照群の30.9日に比し約5日多く，70日目の観察では投与群は53.4日で対照群の42.6日より約11日多いことが示された．即ちクロロキン投与群では明らかに平均生存日数の延長が認められ，後述の腫瘍発育の抑制，転移形成の寡少等と併行していることが窺われるのである．しかし，腹水貯溜を認める悪性度のより増加したものについての第2回実験では同様の方法で実験したにも拘らず，クロロキン投与群において著明な差異を見出すことが出来ず，僅かな差を示すにとどまつた．この様に同一種類の腫瘍間においても薬剤の治療効果に差が認められることは，既に杉浦の腫瘍スペクトラムの掲唱以来明らかな事実であるが[25]，一方Stock[29]もSarcoma 180において同一化学療法剤に対する反応の差異を認めている．Brown-Pearce癌家兎でもTypeが変ると，即ち腫瘍細胞の増殖差により治療効果にも差が生ずることが考えられ，必ずしも腫瘍細胞そのものの本質的な薬剤感受性の差によつて有効性に差を生じたものではないと思われた．

生存率について臼淵[22]は生存率曲線で50%生存日数が対照の50%生存日数に比し2倍以上ある時，延命効果があるものと掲唱しているが，それによつて検討すると第1回実験では対照の50%生存日数の34日に比し投与群では50%生存日数は存しないので矢張り延命効果を認めることが出来，後述の腫瘍の発育状況と関連して明らかな差異が示された．しかし腹水貯溜を認める悪性度のより増加したものについての第2回実験ではクロロキンによる著明な差異を見出すことは出来なかつた．

次に腫瘍の発育に対する影響をみると，クロキン投与群では，移植部睾丸における腫瘍の大きさは一般に一部の所謂制癌剤の実験的腫瘍に示す如き著明な効果は認め難かつたが，対照し比し明らかに腫瘍の発育抑制像を促えることが出来た．即ちクロロキンは腫瘍に対して比較的緩徐に作用していると考えられ，このことは前述の如くクロロキンが腫瘍細胞に直接働くのでなく固有間質の増殖を抑制することにより二次的に実質（腫瘍細胞）を障碍するという作用機序と考え合わせ興味ある現象と思われる．

体重に及ぼす影響について，一般には体重の減少は腫瘍の発育，転移の進展の程度に併行し，従つて

体重の増減曲線により制癌効果の程度を推定し得ると考えられる．さてクロロキン投与群は，はじめ対照に比し低い増加率，後にはより高い増加率を示したが，これははじめクロロキン自体の体重増加抑制傾向が[30]現われた為と考えられ，後には遂にクロロキンの腫瘍発育抑制効果，従つて全身状態の改善等により相対的に体重増加に好影響が示されるものと思われる．

血液所見並びに血清鉄について，一般に担腫瘍生体では鉄の代謝異常として必ず貧血，血色素の低下[31]等が見られ，殊に血清鉄の顕著を減少を伴なうことが多くの研究者により報告されている[32][33][34]．実験成績において示された如く，クロロキン投与群では赤血球の減少，及び血色素の低下を来たす程度が対照に比し軽度であることが認められたのみならず，血清鉄の低下も対照に比し軽度であることが示された．即ち Brown-Pearce 癌家兎の延命，腫瘍発育抑制効果等と併行して鉄代謝上にも抗腫瘍性としての明らかな影響が示された．白血球数に対してはクロロキンは大きな変動を示さず，対照との間に有意の差が認められなかつた．即ち一般に抗生物質を初めとする，あらゆる制癌剤には造血臓器を障碍し，白血球減少症を来たすものが多くみられるが本剤投与においては，かかる副作用もないことが判明した．

最後に斃死時における転移状況について Brown-Pearce 癌はリンパ行性或いは血行性に広汎且高度の転移を形成することが特徴とされており，発現部位も後腹膜，腎，大網，肝，横隔膜，肺及び肋膜等が最も多いと言われている[35]．さて好成績を示した実験例において，腫瘍死した対照群7例，クロロキン投与群4例について転移状況を観察した結果，投与群は対照に比し全般に軽度の減少傾向が認められた．即ちクロロキンはリンパ行性或いは血行性に転移する腫瘍細胞に対してその増殖を抑制する作用を有しているのではないかと考えられ，特に胸部内転移の少ないことはクロロキンの胸部内高分布[36]と考え合わせ意義あるものと思われる．

吉田肉腫ラッテに及ぼす影響

吉田肉腫ラッテはナイトロミンを始め多くの抗癌剤に対して極めて感受性が強いことが報告されているが[37][38][39][40][41]，これらは何れも腹水腫瘍細胞に対する直接効果という面より検索されて来た．さて前述の如く，作用機序の異なる線維芽細胞抑制剤クロロキンを吉田肉腫ラッテに使用した結果は，以上の成績に示す如く，腹水腫瘍の発育抑制には僅か乍ら作用しているように思われたが，Brown-Pearce 癌家兎に示されたような延命効果には顕著な影響を及ぼすことは出来なかつた．以下個々の成績について考按を加えることにする．先ず平均生存日数及び生存率について，第1，第2実験ともクロロキンの静脈内投与群において，稍々平均生存日数の延長を認める傾向にあるものの，腹腔内投与群では対照と差がなく全般的に延命に関して有意の差と思われる変化が認められなかつた．次に腹水腫瘍においては腹水貯溜の抑制，即ち体重の増加を抑制することに抗腫瘍性の意義を認めて制癌剤の効果を判定する方法が行なわれているが[24][25]，この方法により体重の増加率を検索すると，先ず燐酸クロロキン腹腔内投与群で最も少ない体重増加率を示したが，燐酸クロロキン静脈内投与群では対照に比し最初軽度の差がみられるが，やがて対照と同程度のカーブを描いて増加しているのが目立つた．即ち以上の事は後述の腹水に及ぼす影響とも考え合わせ，クロロキンの腹水腫瘍細胞に対する直接効果の可能性も考慮されなければならないと思われる．次に腹水所見に及ぼす影響について検索した結果，クロロキンの腹腔内投与，静脈内投与何れの場合もその腹水量，腫瘍細胞数に明らかな差が認められ，延命効果の示されない本腫瘍に対しても，腹水所見の面よりは抗腫瘍性を示していることが窺われた．最後に燐酸クロロキン1週間投与後の剖検所見について見ると，本剤投与群では，腫瘍形成に関してやや抑制的な傾向が認められ，特に腹腔内投与群でその著るしい差がみられた．以上の様に腹水所見や剖検所見よりして，クロロキンの腫瘍細胞に対する直接効果と云う点も考えられなければならないが，これについては，これまでにクロロキン類似物質であるキナクリン，キノリン誘導体が検索され[42][43][44]，それらのうちには腫瘍細胞に対する直接効果の認められたものもある．しかし乍ら教室平木，木村ら[26]は invitro で本剤を添加した後移植した Ehrlich 癌において，腫瘍の発育抑制が示されなかつたこと，或いは本剤投与後の組織学的検索において壊死範囲の増大にも拘らず．癌細胞の変化が僅少であつたこと，などから本剤の癌細胞に対する直接作用は極めて軽微であるとしており，この点に関してはなお今後検討を要する問題と思われる．

第5章 結 論

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以下に示す様な結果を得た．

1) Brown-Pearce 癌家兎に燐酸クロロキン 10mg/kg を連日投与した場合，その生存日数は対照に比し著るしく延長し，又腫瘍の発育も抑制された．しかし乍ら，悪性度のより増加した Brown-Pearce 癌家兎では有意の差が示されなかつた．

2) 吉田肉腫ラッテに燐酸クロロキン 25mg/kg を連日投与した場合，その延命には著るしい効果は示されなかつたが，腹水貯溜，腫瘍細胞の増殖には抑制的に働いていると思われた．

3) 以上クロロキンは担腫瘍動物に対して抗腫瘍性を示すことが判明した．

擱筆するに当たり御指導と御校閲を賜わりたる恩師平木潔教授に深甚の謝意を表すると共に終始御助言，御援助下さつた木村郁郎講師に深謝致します．

文　献

1) 山本　正，山岡靜三郎：癌研究の進歩，820，1960.
2) 小林忠義，渡辺裕：J. Keio Med. Soc. vol 39, 113～120, 1962.
3) Fischer, A: Cytoplasmic growth principles of tissue cells, Arch. exp. Zellforsch., 1：369～377, 1925,
4) 吉田富三：吉田肉腫，9—25，1949.
5) Lettré, H. & Schleich, A.: Untersuchungen am Yoshida-Tumor, Naturwissenschften 41：505, 1954.
6) 桜井歛夫，佐藤　博，今村　博，森脇絢子：腫瘍細胞の体外培養の研究(1)，吉田肉腫細胞の試験管内継代培養について，癌，47：644～646，1956.
7) Schleich, A.: Wachstum einzeluer explantierter Eellen des Yoshida-Tumors, Naturwissenshaften, 42：50, 1955.
8) 柴田凡夫：吉田肉腫細胞の組織培養による形態学的研究，第一編，細胞浮遊液培養法の検討，岡医会誌，73：877～883，1961.
9) 平木　潔，木村郁郎，守谷欣明，土田澗一郎：気管支喘息に対する新治療法の提唱一燐酸クロロキンの長期投与療法について一（第一報），綜合臨床，10：325～331，1961.
10) 平木　潔，木村郁郎，守谷欣明，土田潤一郎：気管支喘息に対する新しい治療法の提唱一燐酸クロロキンの長期投与療法について，日本医事新報，1925：45～46，1961.
11) 平木　潔，木村郁郎，守谷欣明，土田澗一郎，松浦良三：気管支喘息に対するキノリン誘導体（クロロキン剤）の長期投与療法について，アレルギー，11：90～83，1962.
13) 木村郁郎，山本矩朗，露野嘉彦，小谷利一：若菜病に対する新治療法の提唱一燐酸クロロキン療法を中心として一，綜合臨床，8：796～803，1959.
14) 木村郁郎：若菜病の新しい治療について，消化器病の臨床，2：98～108，1959.
15) 平木　潔，木村郁郎，山本矩朗，小塚　堯，陸亮介，木畑正義：荒菜病の治療に関する研究一特に燐酸クロロキン療法について一，日本臨床，19：417～423，1961.
16) Haberland, G. L. et al.: Pharmakologishe Untersuchungen Zur Wirkungsweise von Antiphlogistika, Z. Rheumaforsch., 18：220～232, 1959.
17) 平木　潔，木村郁郎，松浦良三，山名正俊，守谷欣明，渋谷貢一：クロロキン剤による慢性肝・脾疾患の治療に関する研究一オロチン酸クロロキンを中心に一，消化器の臨床，4：273～277，1962.
18) Brown a. Pearce: J. exp. Med. 37, (601, 631, 799, 811) 1923.
19) Brown a Pearce: J. exp. Med. 38, 347, 1923.
20) 石田：皮膚科紀要，25：463，1935.
21) Algire, G. H., and Chalkley, H. W.: J. Nat. Cancer Inst., 6：73～88, 1945.
22) 臼淵：癌，49，209，1958.
23) Barkan, G. & Walker, B. S.: Determination of Serum Iron and Pseudohemoglobin Iron with O-Phenanthroline, J. Biol. Chem., 135：37, 1940.
24) 山本　正：医学研究動物実験法，朝倉書店，昭31.
25) Sugiura, K.: Cancer Res., 13, 431, 1953.
26) 平木　潔，木村郁郎：綜合臨床，11：10，1807，

1962.
27) Page, F.: Lancet., 2 : 755, 1951.
28) 辻 昇三他：綜合臨床，7：107，1958.
29) Stock, C, C.: Studies in experimental Cancer Chemotherapy, current Research in Cancer Chemotherapy, 3: 3～19, 1955.
30) 江口：第5回リウマチ協会総会，1961.
31) Brahn, B.: Sitzber. Kögl, Preuss. Akad. Wiss. 478, 1916. (癌の臨床，Vol 4，3：196，1958 より)
32) Heilmeyer, L. u. Plötner, K.: Das Serumeisen und die Eisenmangel Krht. gusta. Fisch. in Jena. 1937.
33) Heilmeyer, L.: Med. Welt. Nr., 4 : 138, 1938.
34) 川保他：外科の領域，4：503，昭31.
35) 篠崎芳郎：組織培養法による Brown-Pearce 家兎癌に関する研究，日本微生物学病理学雑誌，Vol31，8：919，昭12.
36) 木村郁郎，松浦良三：クロロキンの臓器内分布について（未刊）
37) 石舘守三，吉田富三他：日本学士院紀要，27：493，1951.
38) 山口健二，岩城徹也：最新医学，15，12：3220，1961.
39) 石舘守三他：Gann，46：475；488，1955.
40) 奏薬樹他：J. Antibiotics (A) 7：107，1954.
41) 梶原 彊，渡辺順明他：武田研究所年報，19，68，1960.
42) Vassey, J. W. et al.: Studies on the administration of quinacrine to tumor-bearing mice, Cancer Research, 15：573—578, 1955.
43) S'akai, S. et al: on the anticancer action of quinone derivatives, Gann, 46：59～66, 1955.
44) Sakai, S. et al: on the anticancer action of quinoline derivatives, Gann, 46：605～615, 1955.

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

Part I Effects of Chloroquine on Experimental Animal Tumors (Brown-Pearce Cancer and Yoshida Sarcoma)

By

Hidenari KODANI

Department of Internal Medicine Okayama University Medical School
(Diroctor: Prof Kiyoshi Hiraki)

A fibrob'ast-inhibiting agent, chloropuine, was employed to be treated against experimental animal tumors, Brown-Pearce cancer and Yoshida sarcoma.

The results are as follows

1) A higher survival rate of the rabbits bearing Brown-Pearce cancer and inhibition of the growth of the tumor were observed by daily administration of chloroquine diphosphate of 10 mg/kg. However no significant results were obtained in the animals with far advanced cancerous involvement.

2) No significant life prolongation was obseved in the rats bearing Yoshida sarcoma by chloroquine administration of daily dosis of 25 mg/kg, but this ttreatment appeared to be inhibited accumulation of the ascites and increase of the ascites tumor cells.

3) As shown above, a fibroblast-inhibiting agent, chloroquine, used in the treatment of the animal tumors, led to reasonably good result.